

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

Vjeran Prce

**SADRŽAJ ANTOCIJANA, POLIFENOLA, FLAVONOIDA I
ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST U CRNIM VINIMA
SLOVAČKIH VINOGRORJA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, srpanj, 2014.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek

Zavod za prehrambene tehnologije

Katedra za vinarstvo

Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Tehnologija vina
Tema rada je prihvaćena na VII. sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 19.5.2014..
Mentor: *Andrija Pozderović, izv. prof. dr. sc.*
Pomoć pri izradi: *Anita Pichler, dr. sc., viši asistent*

SADRŽAJ ANTOCIJANA, POLIFENOLA, FLAVONOIDA I ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST U CRNIM VINIMA SLOVAČKIH VINOGORJA

Vjeran Prce, 78/DI

Sažetak:

Cilj ovog rada je bio ispitati utjecaj vinogorja i sorte na antioksidativnu aktivnost te na sadržaj flavonoida, polifenola i antocijana crnih vina iz slovačkih vinogorja. Uzeti su uzorci crnih vina slovačkih vinogorja (Levicka frankovka, Frankovka modra, Merlot, Alibernet te Cabernet Sauvignon). Određivan je sadržaj antocijana metodom prema Giusti i Wrolstadu (2001.), kojom je pokazano da na sadržaj antocijana utječe sorta, okolinski i klimatski uvjeti, odnosno godina berbe i karakteristike vinogorja. Najveći sadržaj antocijana je imalo vino Donjokarpatskog vinogorja, sorte Frankovka modra. Određeno je, da je sadržaj antocijana veći što je određena degradacija antocijana manja i obrnuto. Polifenolni spojevi su određeni metodom prema Folin – Ciocalteu, a flavonoidi metodom prema Kim, Jeong i Lee (2003), te je utvrđeno da njihov sadržaj u vinima ovisi o sorti, okolinskim i klimatskim uvjetima, odnosno o godini berbe i karakteristikama vinogorja. Antioksidativna aktivnosti je određivana ABTS metodom. Najveću antioksidativnu aktivnost pokazivala je sorta Merlot.

Ključne riječi: crno vino, antocijani, polifenoli, flavonoidi, antioksidativna aktivnost

Rad sadrži: 45 stranica
11 slika
3 tablice
0 priloga
19 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. dr. sc. <i>Tihomir Moslavac</i> , izv. prof.	predsjednik
2. dr. sc. <i>Andrija Pozderović</i> , izv. prof.	član-mentor
3. dr. sc. <i>Anita Pichler</i> doc. dr. sc.	član
4. dr. sc. <i>Mirela Kopjar</i> , izv. prof.	zamjena člana

Datum obrane: 3. srpnja 2014.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Food technologies
Subdepartment of Wine
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Wine technology
Thesis subject was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology at its session no. VII held on May 19. 2014.
Mentor: *Andrija Pozderović* PhD, Associate Prof.
Technical assistance: *Anita Pichler*, PhD, Assistant

THE CONTENT OF ANTHOCYANINS, POLYPHENOLS, FLAVONOIDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF WINES IN SLOVAKIAN VINEYARDS

Vjeran Prce, 78/DI

Summary:

The goal of this research was to examine the influence of vineyard and variety of grape on antioxidant activity, flavonoids, polyphenol and anthocyanin content in red wine from Slovakian vineyards.. The samples of wines from Slovakian vineyards were taken from the market (Levicka frankovka, Frankovka modra, Merlot, Alibernet te Cabernet Sauvignon). The content of anthocyanin was determined according to Giusti and Wrolstad (2001.) which shown that a content of anthocyanin was affected by variety, environmental and climatic conditions, i.e. vintage and vineyard characteristics. The largest amount of anthocyanin had wine from Lesser Carpathian vineyard, the Frankovka modra variety. It is determined that the lower degradation of anthocyanin leads to greater content of anthocyanin and vice versa. Polyphenol compounds were determined by Folin – Ciocalteu method, while flavonoids by method of Kim, Jeong and Lee (2003.) and it is shown that the amount of polyphenol and flavonoids in wine depends on variety, environmental and climatic conditions, i.e. vintage and vineyard characteristics. Antioxidant activity was determined by ABTS-method. The greatest antioxidant activity had the Merlot wine.

Key words: red wine, anthocyanin, polyphenol, flavonoids, antioxidant activity

Thesis contains: 45 pages
11 figures
3 tables
0 supplements
19 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|--|--------------|
| 1. <i>Tihomir Moslavac</i> , PhD, associate prof. | chair person |
| 2. <i>Andrija Pozderović</i> , PhD, associate prof. | supervisor |
| 3. <i>Anita Pichler</i> , PhD, prof. assistant prof. | member |
| 4. <i>Mirela Kopjar</i> , PhD, associate prof. | stand-in |

Defense date: July 3 2014.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

Zahvaljujem svima koji su mi omogućili školovanje

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. GROŽĐE.....	4
2.1.1. Podrijetlo i botanička svojstva vinove loze.....	4
2.1.2. Mehanički i kemijski sastav.....	4
2.1.3. Sorte grožđa za proizvodnju vina.....	5
2.2. VINO.....	6
2.2.1. Definicija i podjela vina	6
2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA	7
2.3.1. Ugljikohidrati.....	7
2.3.2. Alkoholi.....	8
2.3.3. Kiseline.....	9
2.3.4. Esteri	10
2.3.5. Aldehidi i ketoni	10
2.3.6. Fenolni spojevi	11
2.3.7. Tvari arome	12
2.3.8. Enzimi	12
2.3.9. Vitamini	13
2.3.10. Spojevi s dušikom	13
2.3.11. Ekstrakt	13
2.3.12. Mineralni sastojci (pepeo).....	14
2.3.13. Koloidi vina.....	14
2.4. PROIZVODNJA VINA	15
2.4.1. Proizvodnja crnih vina	15
2.4.2. Malolaktička fermentacija.....	17
2.4.3. Dozrijevanje, njega, strabilizacija, filtracija	18
2.4.4. Antioksidativna aktivnost.....	19
3. EKSPERIMENTALNI DIO	21
3.1. ZADATAK.....	22
3.2. MATERIJAL I METODE	22
3.2.1. Uzorci vina koji su analizirani.....	22
3.2.2. Određivanje ukupnih polifenola.....	23
3.2.3. Određivanje antocijana	23
3.2.4. Određivanje degradacije antocijana	24
3.2.5. Određivanje antioksidacijske aktivnosti	24
3.2.6. Određivanje ukupnih flavonoida.....	24
4. REZULTATI	25
5. RASPRAVA	34
5.1. ANTOCIJANI.....	35
5.2. DEGRADACIJA ANTOCIJANA.....	36

5.3. POLIFENOLI I FLAVONOIDI	37
5.4. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST.....	38
6. ZAKLJUČCI	40
7. LITERATURA	43

Popis oznaka, kratica i simbola

PTF	Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Tj	to jest
Tzv	takozvan
ltd	i tako dalje
pH	vrijednost koncentracije vodikovih iona
NaOH	natrijev hidroksid

1. UVOD

Niti jedno drugo piće nije više obožavano ili kritizirano kao vino. Za neke je vino blago koje se treba najbrižnije čuvati i brinuti o njemu, dok je za druge samo obična trivijalnost. Ako se pita Francuze dan bez vina je kao dan bez Sunca. A Talijani vole reći da je bolje mutno vino nego bistra voda. U što god vjerovali činjenica je da je povijest vina neodvojiva od ljudske povijesti. To nam dokazuju predmeti iz egipatskih piramida ili iz područja Mezopotamije gdje su niknule prve civilizacije.

Crno vino se dobiva vrenjem i maceracijom masulja kako bi se izdvojila bojila, ekstrakt, aroma i slično. Glavni zadatak ovog rada bilo je ispitati sadržaj antocijana, flavonoida i polifenola te odrediti antioksidativnu aktivnost u crnim vinima iz različitih vinogorja Slovačke.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. GROŽĐE

2.1.1. Podrijetlo i botanička svojstva vinove loze

Vinova loza (*Vitis vinifera*) je jedna od najranije kultiviranih biljnih vrsta. Pripada botaničkoj porodici Vitaceae s 11 rodova i oko 600 vrsta. Biljke iz ove porodice su povijuše vitkog stabla koje traže potporanj uz koji se oslanjaju i penju učvršćujući se viticama ili pužu po zemlji. Cvijet je dvospolan ili jednospolan. Cvjetovi su skupljeni u cvat ili grozd. Za vinogradarsku proizvodnju važan je samo rod *Vitis* kojeg čine dva podroda *Muscadinia* i *Euvitis*. Za nas je posebno važan rod *Euvitis* koji se dijeli na 40 azijskih, 30 američkih i 1 euroazijsku vrstu. Euroazijska vrsta (*Vitis vinifera*) se dijeli na *Vitis vinifera* var. *Sativa* (europska kultivirana loza) i *Vitis vinifera* var. *Silvestris* (europska divlja loza). Sorte vinove loze za proizvodnju vina moraju pripadati vrsti *Vitis vinifera* ili njenim križancima s drugim vrstama roda *Vitis*. Vrhunska i kvalitetna vina se proizvode od sorata koja pripadaju vrsti *Vitis vinifera* sljedećih karakteristika: europska kultivirana loza, većinom dvospolnih cvjetova, krupnih grozdova s velikim sočnim bobama visoke kvalitete.

Osim loze koja pripada vrsti *Vitis vinifera* postoje razni hibridi vinove loze, a najčešći su francusko-američki i američki hibridi, dobiveni namjerno ili nastali slučajnim oprašivanjem, koji su prilagodljiviji različitim klimatskim uvjetima i otporne na filokseru, peronosporu i pepelnicu [Zoričić, 1996.].

2.1.2. Mehanički i kemijski sastav

Odnos pojedinih dijelova grozda iznimno je važan za količinu i kvalitetu. Odnos ne ovisi samo o sorti već i o nizu drugih faktora kao što su klimatske posebnosti, zemljište, zdravstveno stanje loze i grožđa, stupanj zrelosti ...

Grozd se sastoji od bobice i peteljkovine. Bobicu se sastoji od kože, sjemenke i mesa. Kožica se sastoji od 6 - 10 slojeva. Na površini kože nalazi se voštani sloj tzv. mašak koji joj daje baršunasti izgled i ujedno štiti od isušivanja. Mašak na koži sadrži mikrofloru bobice (kvasce i bakterije). Značaj kože je u njenom kemijskom sastavu koji ima veliki utjecaj na kvalitetu vina, sadrži tvari arome i boje te daje vinima karakterističan okus (buke) te tako arome svojstvene pojedinim sortama kao što su mirisni traminac i muškat više su koncentrirane u koži nego u mesu. Kemijski sastav kože sastoji se od 1 - 3% šećera, 3 - 7% kiselina, 0,3 - 2,5%, 0,3 - 3% pepela i 1,5 - 5,2% dušičnih tvari.

U bobici se nalazi 2 - 7 sjemenki. Sjemenka se sastoji od masne jezgre koju okružuje drvena ljuska odjevena taninskom kutikulom. Sjemenka sadrži 3 - 6% tanina, 12 - 20% ulja, 1 - 5% pepela, šećera 30 - 36% te 25 - 45% vode.

Meso predstavlja 70 - 90% težine bobice. Sastoji se od velikih stanica s finom celulozno pektinskom membranom koja je ispunjena sokom (moštom). Na membrane otpada do 0.5 % mase, a ostalo je čisti mošt. Meso se razlikuje po strukturi i sastavu pa tako imamo središnju zonu koja je najbliže sjemenki, međuzonu koja je i najbogatija šećerima i vinskom kiselinom, te perifernu zonu. Po kemijskom sastavu sadrži 75 - 80% vode, 10 - 27% šećera, 0,5 - 1% kiselina, 0,1 - 0,4% tanina, 0,3 - 1% mineralne tvari, 0,02 - 0,15% dušične tvari i 0,3 - 0,65% celuloze.

Masulj je zgnječeno grožđe, s peteljkinom ili bez nje. Sadrži mošt, kožicu, sjemenke i peteljke ako nisu prethodno odvojene. Zavisno o količini pojedinih sastojaka i sorte mijenja se i sastav mošta, a najčešće se sastoji od 70-90 % mošta, 8-20 % kožice i 2-7 % sjemenki. Cijeđenjem masulja dobiva se groždani sok ili mošt tj samotok. Najvažniji sastojci koji utječu na kakvoću mošta su šećeri, prije svega glukoza (groždani) i fruktoza (voćni) te organske kiseline vinska, jabučna, limunska ... Također na kakvoću utječu sorta loze, klima, sastav tla, agrotehničke i zaštitne mjere.

Peteljkovina se sastoji od peteljki i peteljčica. Služi za provođenje hranjiva do bobice i kao nosač bobice. Sorte s manjom zastupljenošću peteljkovine imaju veće iskorištenje. Čini oko 2-5 % ukupnog udjela, ali ima znatan utjecaj na kvalitetu mošta i vina u konačnici. U moštu s peteljkinom zabilježeno je povećanje polifenola, a posebno tanina, i do 25 % u odnosu na mošt iz kojega su peteljke odvojene uz jednako trajanje maceracije. [Zoričić, 1996.].

2.1.3. Sorte grožđa za proizvodnju vina

Vinske sorte:

- visoko kvalitetne za proizvodnju vrhunskih vina
- kvalitetne sorte za proizvodnju kvalitetnih vina na izuzetnim položajima i vrhunskih vina
- sorte niske kakvoće za proizvodnju stolnih vina

Sorte vinove loze dijele se na:

- preporučene sorte od kojih se preradom mogu dobiti vrhunska i kvalitetna vina sa oznakom kontroliranog podrijetla,
- dopuštene sorte koje se u određenim vinogorjima posebno ne ističu u proizvodnji vina, ali ne narušavaju njegovu kvalitetu već ga u određenim agroekološkim uvjetima dopunjuju,
- privremeno dopuštene sorte, koje su zatečene u pojedinim vinogorjima na dan stupanja na snagu Pravilnika, a zbog svojih organoleptičkih i gospodarskih svojstava nisu predviđene Pravilnikom. Njihov uzgoj je dopušten samo do njihovog biološkog iskorištenja [Pravilnik o vinu, 2004.].

Na crne sorte u Slovačkoj otpada oko petina svih površina zasađenih vinogradima. Najvažnije sorte grožđa za proizvodnju crnih vina u Slovačkoj su: Frankovka (razni varijeteti), Cabernet Sauvignon u toplijim krajevima zemlje, Portugizac, Pinot crni, Zweigeld te Alibernet.

2.2. VINO

2.2.1. Definicija i podjela vina

Prema Zakonu o vinu, vino je poljoprivredni prehrambeni proizvod dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem mošta ili masulja, od svježeg i za preradu pogodnog grožđa. Pod grožđem se podrazumijeva zdrav, zreo, prezreo, prosušen ili prirodno zamrznut plod vinove loze priznatih kultivara namijenjen proizvodnji vina ili drugih proizvoda od grožđa i vina, a čiji sok sadrži minimalnu količinu šećera od 64° Oechsle (133 g/L šećera).

Prema zakonu o vinu, vina se dijele na :

Vina u užem smislu riječi

- mirna vina
- pjenušava vina
- biser vina
- gazirana vina.

Specijalna vina:

- desertna vina
- aromatizirana vina
- likerska vina.

Po boji vina se dijele na bijela, ružičasta (rose, opolo) i crna (crvena).

Po sadržaju neprevrelog šećera vina se dijele na:

- mirna vina na: suha, polusuha, poluslatka i slatka,
- pjenušava, biser i gazirana vina na: vrlo suha, suha, polusuha, poluslatka i slatka.

Vina se razvrstavaju u kvalitetne kategorije ovisno o kakvoći prerađenoga grožđa, prirodu po hektaru, stupnju zrelosti grožđa, prerade i njege, randmanu, količini prirodnog alkohola i drugih sastojaka te organoleptičkim (senzornim) svojstvima vina se razvrstavaju u kvalitetne kategorije.

Po kakvoći mirna se vina dijele na:

1) stolna vina

- stolno vino bez oznake zemljopisnog podrijetla,
- stolno vino s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom

2) kvalitetna vina

- kvalitetno vino s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom

3) vrhunska vina

- vrhunsko vino s kontroliranih i ograničenih vinorodnih područja,
- vrhunsko vino s kontroliranih i ograničenih specifičnih vinorodnih područja,
- predikatna vina s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom,
- kvalitetna i vrhunska vina koja su u podrumskim uvjetima čuvana pet ili više godina, od toga najmanje tri godine u boci, mogu nositi oznaku »arhivsko vino«. [Zakon o vinu, 2003.]

2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA

2.3.1. Ugljikohidrati

Šećer je osnovni sastojak grožđa i na osnovu njega i kiselina određuje se tehnološka vrijednost grožđa. [Zoričić, 1996.]

Šećeri nastaju fotosintezom. Najvažniji s najvećim udjelom su heksoze D-glukoza i D-fruktoza. Na početku dozrijevanja više je glukoze, ali se sazrijevanjem i djelovanjem epimeraze odnos mijenja u korist fruktoze i to je jedan od indikatora zrelosti. Na početku mijenjanja boje bobice odnos glukoza/fruktoza je 1.5 i smanjuje se zriobom grožđa tako da iznosi manje od 1 na kraju zrenja. Ukupna koncentracija glukoze i fruktoze u zreloj grožđi iznosi od 150 do 250 g/l, a može biti i veća u slučaju prezrelog ili prosušenog grožđa. [Handbook of enology: the chemistry of wine, 2006]

Osim glukoze i fruktoze grožđe sadrži i druge šećere, ali u znatno manjim količinama. Od heksoza najzastupljenije je izomer glukoze galaktoza.

Pentoze su prisutne u vrlo malim količinama (0.3-2 g/l), kvasci ih ne previru i zastupljenije su u crnim nego u bijelim vinima. Ne utječu na slatkoću jer im je indeks slatkoće samo 0.4. Najpoznatije su arabinoza i ksiloza. [Handbook of enology: the chemistry of wine, 2006.]

Od oligosaharida najvažnije su disaharidi saharoza, maltoza, rafinoza i melibioza, osim saharoze koja je jedina važna, ostali se nalaze samo u tragovima.

Još treba istaknuti pektine i škrob te sluzave tvari koje znatno otežavaju taloženje i bistrenje vina.

Udio šećera u grožđu i moštu ovisi o sorti, okolinskim i vremenskim uvjetima. Visokokvalitetne sorte mogu imati od 22 - 28 % šećera. Kvalitetne sorte imaju 18 - 22 % šećera. [Vuković, 2000.]

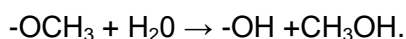
2.3.2. Alkoholi

U vinu se nalazi velik broj raznih vrsta alkohola, a mogu se podijeliti u dvije osnovne skupine: alifatske i aromatske. Alifatski alkoholi se dijele na monovalentne i viševalentne.

Najizraženiji i najzastupljeniji monovalentni alkoholi u vinu su etanol i metanol.

Osim vode, etilni alkohol je najzastupljenija tvar u vinima i jačina vina se izražava preko volumnog udjela alkohola. Gustoća mu je 0.79 i u vinima ga ima oko 100 g/l ili oko 12,6, ali može biti i u većim koncentracijama. Etanol nastaje alkoholnim vrenjem šećera iz mošta, ali male količine mogu nastati u stanicama grožđa u anaerobnim uvjetima pod utjecajem enzima alkohol dehidrogenaze. Uglavnom je potrebno oko 16 g/l šećera da bi se postigao 1 volumni postotak alkohola. [Handbook of enology: the chemistry of wine]

Metanol je prisutan u vinima u vrlo malim količinama od oko 30-35 mg/l i nema naročit utjecaj na senzorska svojstva vina. Ne nastaje alkoholnom fermentacijom nego je rezultat enzimatske hidrolize metoksilnih skupina pektina tijekom fermentacije prema formuli



Kako je grožđe namirnica s relativno malim sadržajem pektina vina su fermentirani napitci s najmanjim udjelom metilnog alkohola.

Najviše metanola ima u crnim vinima 152 mg/l, rose vina sadrže oko 91 mg/l, a najmanje ih je u bijelim vinima 63 mg/l.. Također vina od hibridnih sorti imaju više metanola nego ona napravljena od grožđa Vitis vinifere.

Dobro je poznata otrovnost metanola. Nakon uzimanja brzo se oksidira do mravlje kiseline ili do aldehida i oba ova spoja su toksična za središnji živčani sustav, a posebno metanolov aldehyd koji razara optički živac i uzrokuje sljepilo.

Viši alkoholi: propilni, butilni, amilni, heksilni, heptilni i njihovi izomeri javljaju se u minimalnim količinama u vinu, a daju posebnu aromu vinima, a posebno su važni njihovi esteri. Tako neki od njih kao npr izoamil acetat daje ugodnu aromu banane mladim vinima. Viši alkoholi nastaju kao rezultat rada kvasaca bilo razgradnjom šećera ili aminokiselina u grožđu. [Handbook of enology: the chemistry of wine]

Terpenski alkoholi spadaju u nezasićene monovalentne alkohole, a imaju značajnu ulogu u formiranju arome vina. [Planinić, 1998.]

Polioli ili viševalentni alkoholi su alkoholi s više hidroksilnih skupina. Najvažniji od njih je glicerol koji je treći najzastupljeniji spoj u vinima i najvažniji je nusprodukt fermentacije. Koncentracija glicerola je obično oko 5 g/l, ali može doseći koncentraciju i do 20 g/l, posebno

kod grožđa zahvaćenog plemenitom plijesni botritisom te nastaje na početku fermentacije. Kod nekih specijalnih vina kao što je Sherry može služiti kao hrana mikroflori u procesu proizvodnje. U vinima značajno utječe na okus dajući mu osjećaj punoće i blagosti i pojačava slatkoću etanola u suhim vinima iako se drži da nije odgovoran za slatkoću u polusuhim vinima.

Ostali poliolli su butandiol, arabitol, sorbitol, manitol. [Handbook of enology: the chemistry of wine, 2006.]

U aromatske alkohole spadaju feniletanol, tirozol i benzil alkohol, a nastaju fermentacijom iz fenilalanina. Najzastupljeniji je feniletanol, koji ima miris meda, a prisutan je u malim količinama, ali ipak jako važan za bouquet vina. [Planinić, 1998.]

2.3.3.Kiseline

Prema Pravilniku o vinu vino mora sadržavati najmanje 4,5 g/l, a najviše 14 g/l ukupnih kiselina izraženih kao vinska kiselina. [Zakon o vinu, 2003.]

Kiseline u vinu su prisutne kao normalni sastojci vina, ali i kao produkti kvarenja vina. To su organske (nehlapljive i hlapljive), anorganske kiseline i soli različitih kiselina.

Grožđe sadrži sljedeće organske kiseline:

vinska kiselina,

jabučna kiselina,

limunska kiselina,

askorbinska kiselina,

oksalna kiselina,

glikolna kiselina,

glukonska kiselina (grožđe zaraženo sivom plijesni).

Udio kiselina u grožđu i moštu je od 5-15 g/L. Najveći udio je vinske i jabučne kiseline; jabučna se nalazi u početku zrenja, zrenjem se smanjuje u procesu respiracije što ovisi o temperaturi. Osnovne kiseline grožđa su vinska, jabučna i u manjoj mjeri limunska, a u vrlo maloj količini nalazimo askorbinsku, oksalnu, glikolnu itd. U grožđu zaraženom Botrytisom nalazimo i povećane koncentracije glukonske kiseline.

Vinska kiselina je ključna i najjača organska kiselina mošta, pa u pravilu i najviše utječe na njegovu pH – vrijednost dajući mu kiselost 3-3.5 pH.

Jabučna kiselina na početku dozrijevanja ima vrlo visoke vrijednosti (25 g/l), a prema punoj zrelosti njezina koncentracija opada. Pad koncentracije kiselina u grožđu, posebice jabučne vezan je uz oksidaciju, izgaranje u procesu disanja, a ovi procesi povezani s temperaturom zraka. Tako se visoka kiselost bilježi u hladnijim područjima i godinama, dok je nasuprot

tome u toplijim krajevima te vrućim ljetima ukupna kiselost grožđa niska. I u jednom i drugom slučaju rezultat su neharmonična, neskladna vina, što uvelike utječe na njihova senzorna svojstva. Uklanja se malolaktičnom fermentacijom.

Mliječna kiselina se u vinu javlja kao sekundarni produkt alkoholne fermentacije. U većoj količini javlja se u pokvarenom vinu uslijed metabolizma mliječno-kiselih bakterija.

Limunska kiselina u vinu nastaje previranjem šećera djelovanjem plijesni. Inhibira djelovanje kvasca, ali ga ne prekida, koncentracija prije jabučno-mliječne fermentacije je 0.5 – 1 g/l.

Askorbinska kiselina u grožđu i vinima dolazi u obliku ciklo estera, najvažnija joj je uloga sprječavanje fenola od oksidacije. [Handbook of enology: the chemistry of wine, 2006.]

Od hlapljivih kiselina u vinu, najzastupljenija je octena kiselina. Pojava octene kiseline karakteristična je za bolesna vina. Nastaje oksidacijom alkohola, djelovanjem octenih bakterija u aerobnim uvjetima, te djelovanjem kvasaca u anaerobnim uvjetima tijekom alkoholne fermentacije.

Anorganske kiseline prisutne u vinu najčešće se javljaju u obliku kalcijevih i kalijevih soli.

Ukupna kiselost se obično izražava u gramima po litri kao vinska kiselina (u nekim zemljama kao sumporna), a utvrđuje se postupkom titracije (neutralizacije) s NaOH. Kiselost grožđa može biti i sortno svojstvo, unatoč vrlo velikom utjecaju okolinskih čimbenika [Pozderović, 2010.]

2.3.4.Esteri

Esteri nastaju reverzibilnom reakcijom alkohola i kiselina enzimatskom esterifikacijom tijekom fermentacije i kemijskom esterifikacijom tijekom dugotrajnog odležavanja i starenja. Kako je u vinima broj i jednih i drugih velik tako je i mogućnost nastanka raznih estera poprilična. U grožđu ih ima malo (10-30 mg/L), dok se njihov sadržaj u vinu znatno povećava. Najviše ima etilestera, oksil-kiselina, dietilsukcinata, dietiltartarata, dietilmalata (100 - 500 mg/l), te manje količine estera vinske, jabučne, i jantarne kiseline. U sastavu srednjih estera masnih kiselina prevladava etilacetat (30 - 200 mg/L) koji u većim koncentracijama crvenim vinima daju trpki i opori okus u ustima. [Planinić, 1998. i Handbook of enology: the chemistry of wine, 2006.]

2.3.5.Aldehidi i ketoni

Aldehidi i ketoni predstavljaju skupine spojeva koji imaju izuzetan učinak na senzorska svojstva vina tvoreći karakteristične arome i bouquet vina ili neke nepoželjne mirise. Vrlo su reaktivni i lako oksidiraju u karboksilne kiseline, a njihova aktivnost se inaktivira vezivanjem sumporaste kiseline, to je jedan od glavnih razloga sumporenja bačvi.

Pozitivan utjecaj je u tome što vinu daju voćne arome. Iako ih je u vinu jako malo, alifatski aldehidi daju ugodan voćni miris. Najzastupljeniji je acetaldehid.

Etanal daje vinima miris svježih zelenih jabuka i lako se uklanja dodatkom SO₂.

Od aromatskih aldehida valja spomenuti vanilin koji daje vinima ugodan miris vanilije, a ovo je povezano sa starenjem hrastovih bačava te heksanal koji im daje biljni miris.

Ketona u moštu i vinu ima izrazito malo, najzastupljeniji su aceton, acetoin i diacetil te neki drugi. Većina ima miris po maslacu pa u koncentracijama većim od 1 mg/l može dati neugodnu aromu užeglosti. [Vrdoljak, 2009.]

2.3.6. Fenolni spojevi

Imaju važnu ulogu u vinarstvu, odgovorni su za razlike između crnih i bijelih vina a posebno za boju i okus crnih vina. Osim toga, imaju baktericidna, antioksidativna i vitaminska svojstva te štite konzumente od kardiovaskularnih bolesti. Nalaze se u grožđu odakle ekstrakcijom prelaze u vino [Maletić, Karoglan Kontić, Pejić, 2008.].

Fenolne tvari lako oksidiraju već u samom dodiru sa zrakom. Oksidacija je intenzivnija enzimatskim djelovanjem polifenoloksidaze što dovodi do posmeđivanja vina.

Najpoznatije su taninske i bojane tvari koje potječu iz čvrstih dijelova grožđa.

Taninske tvari nalaze se u kožici, peteljci i sjemenkama grožđa odakle prelaze u vino. Važan su sastojak vina za vrijeme vinifikacije i odležavanja vina.

One zgrušavaju proteine i time uvjetuju bistrenje i taloženje mošta, djeluju fiksirajuće na tvari boje, imaju antiseptično djelovanje, jer štite vino od razvoja octenih bakterija i bolesti vina.

Dozvoljena količina iznosi najviše do 0,5 g/L za bijela vina, do 1,5 g/L za ružičasta vina a do 4,0 g/L za crna vina.

Bojane tvari nalaze se u kožici bobica. Tu spadaju derivati flavona i karotenoidi koji čine boju bijelih sorti grožđa. Derivat klorofila flobafen prelazi iz peteljkovine u mošt, odnosno vino. Flobafen je nepoželjan jer vinu daje neugodan okus i zbog toga se peteljkovina odvaja još prije cijedenja. Antocijani najvećim dijelom čine boju crnih sorti grožđa.

Prisutnost derivata oksicimetnih kiselina u moštu i vinu uzrokuje posmeđivanje i promjenu boje vina [Vrdoljak, 2009.].

Flavonoidi su žuti pigmenti različitih intenziteta obojenja, sadržani su u kožici bijelog i crnog grožđa. U grožđu se nalaze u obliku glikozida koji hidroliziraju tijekom fermentacije dok se u vinu nalaze u obliku aglikona. [Pozderović, 2010.].

Antocijani su flavonoidni polifenoli koji u prirodi dolaze u obliku antocijanina tj glikozida pojedinih antocijanida (malvidin, delfinidin, cijanidin, petunidin...). U grožđu se pretežito nalaze u obliku monoglikozida. Glavni dio antocijana su antocijanidini čiji su konjugirani dvostruki vezovi odgovorni za apsorpciju svjetla kod oko 500 nm pa ih ljudsko oko vidi od crvene, narančaste do plavocrvene boje.

Šećeri koji su vezani na antocijanidine i čine glikozide su: monosaharidi (glukoza, ramnoza, galaktoza, arabinoza i ksiloza), te disaharidi i trisaharidi (rutinoza, soforoza, ambubioza i glukorutinoza).

Sastav i intenzitet boje ovisi o sorti i okolišnim uvjetima.

Antocijani su vrlo nestabilne molekule, na njihovu stabilnost utječu pH, kisik, temperatura i svjetlost, enzimi, struktura i koncentracija [Pozderović, 2010.].

2.3.7.Tvari arome

Tvari arome potječu iz mnogobrojnih skupina kemijskih spojeva koji se nalaze u samom grožđu te tijekom vinifikacije prelaze u vino, mijenjaju se, međusobno reagiraju i kao takvi stvaraju specifičnu aromu vina, tzv. „bouquet“. Iako nedovoljno istražene, poznate su mnogobrojne tvari arome koje pripadaju velikom broju različitih lako hlapljivih kemijskih spojeva: hlapljive karbonske kiseline, alkoholi, esteri, aldehidi, ketoni, eterična ulja, više masne kiseline, terpeni, te tvari slične smolama i voskovima. Održivost i forma mirisa vina u mnogome ovise od same vinifikacije te njegovanja i čuvanja vina [Planinić, 1998.].

Najvažniji hlapljivi spojevi primarne arome grožđa, spojevi nositelji sortne arome, su monoterpeni: [Pozderović, 2010.].

- geraniol,
- linalol,
- nerol,
- α -terpineol,
- citronelol
- hotrineol

Pored primarne imamo i sekundarnu aromu koja se razvija tijekom obrade grožđa, zatim aromu fermentacije kao produkt alkoholne i malolaktičke fermentacije te aroma starenja koja nastaje dozrijevanjem i starenjem vina i kao nusproizvod reakcija vina i drveta [Handbook of enology: the chemistry of wine, 2006.].

2.3.8.Enzimi

Kao pokretači kemijskih reakcija tijekom fermentacije, vinifikacije i starenja vina te pri razvijanju sekundarnog bouquet-a enzimi igraju vrlo značajnu ulogu u vinarstvu i podrumarstvu. Ima ih različit broj, ovisno o zdravlju grožđa, uglavnom provode reakcije oksidacije i hidrolize. Najvažniji su saharaza (invertaza), pektaza, tanaza, i katalaza. Saharaza provodi hidrolizu sahara u glukozu i fruktozu, pektaza je važna pri bistrenju vina gdje hidrolizira pektinske tvari na poligalakturonsku kiselinu i metanol. Tanaza nije primarno

prisutna u grožđu nego dolazi iz pljesnivog grožđa i u vinu katalizira tvorbu taninskih tvari. Katalaza katalizira izdvajanje kisika iz vodikova peroksida i ostalih peroksidnih spojeva i na ovaj način toksično djelovanje tih spojeva ne dolazi do izražaja. [Handbook of enology: the microbiology of wine and vinifications i Vrdoljak, 2009.].

2.3.9.Vitamini

Prisutni u malim količinama, ali su prisutni u relativno velikom broju : provitaminA, vitamin B1, B2, nikotinamid, pantotenska kiselina, piridoksin, B 12, folna kiselina, kolin, mezoinozitol, biotin, tokoferol, vitamin C. Neki su prirodno prisutni dok se neki stvaraju tijekom fermentacije. [Banović, 2008.].

2.3.10.Spojevi s dušikom

Tu spadaju: proteini, polipeptidi, amini, amidi, heksozamini, nukleinski dušik, biološki amini (hrana za kvasce- izvori dušika!).

Dušični spojevi iz mošta prelaze u vino. Količina u moštu pa tako i u vinu ovisi o više čimbenika kao što su prirodno prisutna hranjiva u tlu, prihranjivanje, zdravstveno stanje loze i grožđa, načinu prešanja pa tako preševina ima više dušičnih tvari od samotoka.

Dušične tvari znatno utječu na stabilnost jer uzrokuju zamućenje, a po prirodi su pozitivno nabijeni koloidi. Dodatkom negativnih bistrila poput tanina se talože na dno. [Zoričić, 1996.].

2.3.11.Ekstrakt

Ukupni suhi ekstrakt u vinu čine sve organske i mineralne tvari koje nisu hlapljive pod specifičnim fizikalnim uvjetima. Tvari koje čine ukupni suhi ekstrakt su ugljikohidrati, nehlapljive kiseline, tvari boje, viši alkoholi, mineralne tvari, polifenoli.

Ekstrakt u vinu može biti:

- ukupni suhi ekstrakt, čine ga svi sastojci vina koji nisu hlapivi pod specifičnim fizikalnim uvjetima.

- nereducirani ekstrakt bez šećera, dobije se kada se od ukupnog suhog ekstrakta oduzme sadržaj ukupnih šećera u vinu.

- reducirajući ekstrakt, dobije se kada se od ukupnog suhog ekstrakta oduzme sadržaj ukupnih šećera umanjen za 1 g ako je sadržaj šećera preko 1 g/L.

Pored tri navedena ekstrakta izračunava se i ekstrakt bez šećera i bez hlapivih kiselina. Dobije se tako da se pored šećera od ukupnog suhog ekstrakta oduzme sadržaj nehlapljivih kiselina.

Sadržaj ekstrakta u vinu je važan parametar kakvoće vina, ovisi o vrsti vina, sorti grožđa, klimatskim uvjetima i tehnologiji prerade.

Crna vina u principu sadrže više ekstrakta, od 25-30 g/L i više, bijela vina do 25 g/L.

Pojedine sorte grožđa, a posebno sorte za proizvodnju crnih vina sadrže više tvari koje čine ekstrakt.

Klimatski uvjeti tijekom vegetacije utječu na sadržaj ekstrakta, u toplim i sunčanim godinama sa manje oborina više je ekstrakta te vrsta tla kao i položaj vinograda utječe na sadržaj ekstrakta kao i tehnologija prerade, duljine maceracije prije fermentacije, jačina prešanja, duljina stajanja pod tropom, vrsta kvasaca [Pozderović, 2010.].

2.3.12.Mineralni sastojci (pepeo)

Mineralnim tvarima ili pepelom nazivamo anorganski zaostatak nastao nakon isparavanja vode na vodenoj kupelji i žarenja suhe tvari vina. Loza iz zemlje crpi minerale koji preko grožđa i mošta dopijevaju u vino. Količina pepela se kreće od 1,1 – 4,6 g/l zavisno o sorti i stupnju zrelosti i kvaliteti grožđa, te drugim pedološkim, reljefnim, i klimatskim uvjetima. Ovaj dio pepela vuče biološko-endogeno porijeklo, a još postoji i tehnološko porijeklo pepela iz tehnološkog procesa ili djelovanjem čovjeka preko sredstava zaštite ili drugih agrotehničkih mjera. Ovako se najčešće unosi bakar te natrij i kalij preko bentonita ili posolice u primorskim krajevima. Minerali u vinu se nalaze u obliku slobodnih iona ili vezani u spojeve, negativno utječu kroz pojavu lomova ili metalnog okusa vina. U vinu se uglavnom nalaze u obliku kalcijevih, kalijevih i magnezijevih soli sumporne, fosfatne i karbonatne kiseline te od tragova bakra, željeza i mangana.

Crna vina sadrže više pepela jer se dio tvari ekstrahira tijekom fermentacije.

S druge strane pojava mikroelemenata ima pozitivnu stranu u obliku pojačane arome i bouquet-a te izražajnije sortne karakteristike grožđa. [Zoričić, 1996. i Handbook of enology, 2006.]

2.3.13.Koloidi vina

Koloidne tvari u vinu uzrokuju povećanje viskoznosti, opalesciranje, zamućenje vina i pojavu kataforeze (čestice posjeduju istovrstan naboj), te na taj način nepovoljno utječu na organoleptička svojstva vina. Čestice su reda veličine 1 – 100 µm.

Dijelimo ih na liofilne i liofobne. Liofilni koloidi imaju sposobnost vezivanja vode i povećanja kiselosti vina, a u njih ubrajamo sluzave tvari vina, proteine i pektinske tvari. Liofobni koloidi su izuzetno osjetljivi na elektrolite pa tako dolazi do njihove koagulacije čak i pri malim promjenama pH. Liofilni koloidi uglavnom sadrže kompleksne spojeve željeza, fosfora i bakra [Vrdoljak, 2009.].

2.4. PROIZVODNJA VINA

Enologija je znanstvena disciplina koja se bavi tehnologijom proizvodnje vina. Ova disciplina proučava kemijski sastav vina, proizvodnju i čuvanje kakvoće vina s ciljem da se poboljša iskorištenje sirovine i da se ustanove načini koji omogućuju da se dobije vino konstantne kakvoće.

2.4.1. Proizvodnja crnih vina

Kad grožđe dostigne tehnološku zrelost pristupa se berbi tj kada se pokaže da sadržaj šećera u bobi više ne raste. Tada bi već omjer kiselina i šećera u grožđu trebao biti optimalan. Poslije berbe bi se što skorije trebalo pristupiti preradi. [Pozderović, 2010.].

Prvi postupak u preradi grožđa je muljanje. To je postupak odvajanja bobica od peteljkovine, a njihovo razdvajanje nazivamo ruljanje. Ove je operacije potrebno što hitniji provesti. [Zoričić 1996.].

Kod proizvodnje crnih vina, obojene tvari potrebno je ekstrahirati iz grožđa u mošt, odnosno vino. Da bi došlo do ekstrakcije bojenih tvari provodi se vrenje masulja.

Masulj je zgnječeno grožđe koje sadrži krutu fazu (pokožica, sjemenke i meso) i tekuću fazu (groždani sok). Nakon berbe, grožđe se mulja i odstranjuju se peteljke. Peteljke je potrebno odstraniti zato što fermentacijom masulja sa peteljkama dolazi do velike ekstrakcije tanina koji bi vinu dali vrlo opor okus. Potrebno je peteljke izdvojiti neposredno nakon muljanja. Nakon toga ili tijekom te operacije treba sumporiti masulj [Licul, Premužić, 1977.].

Sumporenje se provodi da bi se zaštitile bojene tvari od oksidacije, reducirao rad i razmnožavanje nepoželjnih divljih kvasaca i bakterija. Masulj se sumpori sa 8 - 10 g/hl kalijeva metabisulfita ili 80 - 100 ml/hl 5% otopine sumporaste kiseline.

U suvremenoj tehnologiji kvalitetnih crnih vina, tijekom muljanja i runjenja ili nakon toga dodaju se u masulj pektolitički enzimi. Pektolitički enzimi razgrađuju pektin u kožicama bobica u kojima se nalaze bojene tvari, na taj način se oslobađaju u potpunosti tvari boje prisutne u kožici. Zatim slijedi fermentacija.

Fermentacija /vrenje/ je jedan od najbitnijih procesa u vinarstvu. Provode je kvasci.

Kvasci se pojavljuju na vinovoj lozi na početku zrenja gdje dospijevaju iz tla putem zraka, čestica prašine, insekata (tzv nativni ili prirodni kvasci).

Alkoholna fermentacija - pretvorba mošta (masulja) u vino uz djelovanje kvasaca provodi se na dva načina:

- Spontana fermentacija- provode je kvasci koji se nalaze u moštu
- Selekcioniranim kvascima (pojedinačne ili mješovite kulture - rjeđe)

U suvremenom vinarstvu provodi se fermentacija selekcioniranim kvascima kako bi se dobio proizvod zadovoljavajuće kvalitete i karakteristika.

Alkoholna fermentacija mošta predstavlja početak nastanka vina. Provodi se u drvenim, metalnim ili betonskim vrionicima, u dvije odvojene faze:

- glavno (burno) vrenje,
- naknadno (tiho) vrenje.

Kod glavnog vrenja imamo toplo vrenje na 15 – 18 °C (maksimum 20 °C) u trajanju od 5 - 10 dana i hladno vrenje na 10 – 15 °C u trajanju od 7 - 14 dana.

Naknadno vrenje odvija se na minimalnoj temperaturi od 15 °C u trajanju od 3 - 6 tjedana.

Suvremena tehnologija danas preporuča vrenje pri niskim temperaturama tzv. hladno vrenje.

Na visokim temperaturama vrenje je burno, CO₂ naglo izlazi i odnosi iz mošta aromatične tvari i alkohol, što nepovoljno djeluje na kvalitetu vina. Kod nižih temperatura (13 - 17 °C ili niže) vrenje je jednakomjernije, iskorištenje šećera je bolje, dobivaju se skladnija vina s više aromatičnih i buketnih tvari i manje hlapljivih kiselina.

Tijekom vrenja kvasci razlažu šećer na glavne produkte fermentacije: etanol i CO₂. Osim ovih primarnih produkata nastaju i manje količine sekundarnih produkata: glicerol, jantarna kiselina, acetaldehid, viši alkoholi, hlapljive kiseline, aminokiseline i metanol.

U suvremenom vinarstvu, za fermentaciju crnih vina, koriste se vinifikatori. Vinifikatori su posude za vrenje masulja bez prisutnosti kisika, uz miješanje. Fermentacija masulja kod proizvodnje crnih vina se provodi na temperaturi oko 20°C. Da bi se održavala ta temperatura, potrebno je također provoditi hlađenje masulja i održavanje temperature. Previsoka temperatura vrenja bi uzrokovala burnu fermentaciju, zbog čega bi iz masulja izašao CO₂ i hlapljivi aromatični sastojci.

Maceracija je potpuno izdvajanje pojedinih sastojaka iz čvrstih dijelova grožđa (antocijani, tanini, tvari arome, vitamini itd). Klasična maceracija odvija se istovremeno sa alkoholnom fermentacijom čime se pospješuje razgradnja stanične stjenke pokožice i dolazi do bolje ekstrakcije tvari boje. Boja se najintenzivnije ekstrahira u prvih 3 - 5 dana vrenja nakon čega je završena ekstrakcija boje. Nakon tog perioda intenzivnije se povećava sadržaj tanina, pa predugim ostavljanjem masulja na vrenju u vino se otapa više tanina zbog čega kasnije postaje previše oporo i trpko.

Zbog toga se nakon 3 - 5 dana vrenje masulja prekida i vrši prešanje. Ukoliko se provede depektinizacija masulja prije vrenja prešanje treba provesti prije.

Nakon burnog ili glavnog vrenja, i kod crnih i bijelih vina, u vinu preostane manji udio šećera zbog čega se u bačvama ili cisternama nastavlja tiho ili naknadno vrenje pri čemu prevrije preostali šećer. Kod grožđa koje ima veliki udio šećera, redovito dolazi do naknadnog vrenja i vino sporije dozrijeva. Važno je prepoznati naknadno vrenje, ne zamijeniti ga sa

malolaktičkom fermentacijom i ne prekidati ga sumporenjem i pretakanjem [Johanides, 2007.]

2.4.2. Malolaktička fermentacija

Mlada su vina, zbog povišenog udjela vinske i naročito jabučne kiseline, obično tvrda, opora i neharmonična. Jabučna kiselina je oporog okusa, tijekom jabučno mliječne fermentacije prelazi u slabiju i blažu mliječnu kiselinu. Tijekom dozrijevanja zbog izlučivanja vinske kiseline u obliku kalijeva tartarata i posebice zbog razgradnje jabučne kiseline u mliječnu smanjuje se ukupan broj kiselina. Ovaj postupak se često naziva i drugo vrenje jer se zbog razgradnje jabučne kiseline stvara CO₂ koji ima bitnu ulogu u formiranju kakvoće vina, ali je ovo u potpunosti bakterijsko vrenje u kojem sudjeluje mnoštvo bakterija. Biološka razgradnja jabučne kiseline u mliječnu (JMF) - (koju provodi npr. *Leuconostoc oenos*) - doprinosi kakvoći vina čineći ga manje kiselim, harmoničnim i mekšim, nježnim i na kraju potpuno zrelim. Razgradnjom jabučne kiseline vino postaje stabilnije obzirom na bakterije mliječnog vrenja kao uzročnike kvarenja. Bakterije koje provode mliječno vrenje otporne su na nisku vrijednost pH, visoki udio alkohola, nisku temperature skladištenja te dodatak SO₂. Rastu u vinu, iako nešto sporije, i pri tome sintetiziraju enzime koje provode dekarboksilaciju jabučne kiseline u mliječnu. Smatra se da bakterije roda *Leuconostoc* provode jabučno-mliječno vrenje dok su predstavnici roda *Lactobacillus* više orijentirani na korištenje šećera i drugih sastojaka vina. Pored mliječne kiseline i ugljičnog dioksida nastaju i drugi sekundarni produkti vrenja kao što su acetaldehid, octena kiselina, diacetil, acetoin, butandiol, etilni laktat...

U suvremenom vinarstvu i podrumarstvu primjenjuju se suvremeni postupci za sprječavanje ili za induciranje biološkog smanjenja kiseline.

Za sprječavanje razgradnje jabučne kiseline kod vina koja nemaju visok udio kiselina koristi se kombinacija niske temperature (do 15°C), te jačeg sumporenja i ranijeg prvog pretoka, a može se koristiti lizozim koji inaktivira bakterije MLF.

Za poticanje malolaktičkog vrenja u prekiselim bijelim vinima i u crnim vinima namijenjenim dužem dozrijevanju treba vino kasnije otočiti s taloga i slabo ga sumporiti uz održavanje niske temperature podruma (18-25°C). Danas se koriste preparati čistih kultura bakterija mliječno kiselog vrenja, najčešće *Leuconostoc oenos*. Prednost ovog postupka je mogućnost reguliranja brzine procesa što povoljno utječe na aromu i okus vina.

Ako grožđe ili mošt sadrži manje kiselina, kao što su to vina primorske Hrvatske, nakon alkoholnog vrenja vino se mora sumporiti, prvi pretok obaviti ranije, a temperatura u podrumu održavati do 15°C.

U kontinentalnom dijelu, posebice sjeverozapadna Hrvatska, gdje su vina kiselija, s većim udjelom jabučne kiseline, moramo ih kasnije otočiti s taloga, kako bi se iz stanica kvasca oslobodili sastojci potrebni za rast bakterija, koje provode JMF, a također treba i slabije sumporiti.

Vina u kojima je uspješno provedena JMF imaju aromu po maslacu, orašastim plodovima, medu, vaniliji, začinima, po zemlji, po prepečencu, imaju jače tijelo i zaokruženost, svileni tanini (meki) se duže zadržavaju na jeziku, a negativni učinci JMF, posebno ako se provodi u nekontroliranim uvjetima mogu rezultirati intenzivnom mliječnom aromom, aromom užegnuto jogurta, slatkastim i octikavim okusom, animalnim notama, mirisom vlažne kože, upaljene šibice i trulog voća te se može sintetizirati i histamin koji je štetan za ljude i izaziva alergije.

Jabučno mliječnu fermentaciju poželjno je provoditi u bijelim vinima koja sadrže više kiselina (iznad 8 g/l), crnim vinima koja optimum kvalitete postižu duljim dozrijevanjem te u vinima za šampanjizaciju, ne preporučuje se koristiti je u vinima koja su prirodno siromašna kiselinama, bijelim suhim vinima voćnog karaktera u kojima količina kiselina od 6.8 do 7.5 g/l uz 11-12 % alkohola osigurava harmoničnost okusa, vinima dobivenima od sorata koja posjeduju posebna organoleptička svojstva jer tipične okusne i mirisne promjene u malolaktičkom vrenju mogu prekriti osobenost sorte (primjerice rizling rajnski) i ružičastim vinima kojima je svojstvena svježina okusa. [Banović, 2008., Pozderović, 2010., Wine microbiology].

2.4.3. Dozrijevanje, njega, stabilizacija, filtracija

Nakon završene fermentacije mlada vina su mutna, bez formiranog okusa te s izraženim mirisom na kvasce. Tek odležavanjem u mladom vinu dolazi do bistrenja i izgradnje mirisa i okusa. Primarnu aromu čine arome grožđa – sortni miris i aroma, sekundarnu čini aroma vrenja, tercijarnu aromu čine arome i mirisi dobiveni zračenjem pri pretoku i odležavanjem – bouquet vrenja. Kisik ima značajnu ulogu u procesu dozrijevanja vina, bilo da on dolazi izravno iz zraka prilikom pretoka ili kroz dužice drvenih bačava. Dostupnost kisika u malim količinama povoljno utječe na okus u vidu mekšanja tanina (polimerizacija), boju (kopigmentacija antocijana), aromu (nastajanje acetaldehida i drugih spojeva arome) ... Za dobivanje vina određene kvalitete u vinarstvu se uvode nove tehnologije kao što su sur lie, ubacivanje hrastovog drveta u obliku praha, letvica ili piljevine, mikrooksigenacija, odležavanje u barique bačvama ...

Njegovina nazivaju se svi oni postupci u cilju očuvanja svježine i kvalitete vina. To uključuje pretakanje, sumporenje, bistrenje, nadolijevanje i drugi postupci.

Nadolijevanje vina je važno jer se smanjivanjem temperature skladištenja smanjuje i volumen vina (preporučena temperatura skladištenja je 12 °C), volumen se također smanjuje

isparavanjem alkohola i ugljičnog dioksida pri skladištenju u drvenim bačvama te je potrebno maksimalno smanjiti veličinu praznog prostora u kojemu je moguć razvoj bakterija octenog vrenja i drugih koji mogu dovesti do degradacije kvalitete.

Pored bistrenja vina taloženjem čestica mutnoće i vezanjem nestabilnih spojeva iz vina za stabilizaciju vina je vrlo važna i hladna stabilizacija vina. To je postupak hlađenja vina do temperature bliske temperaturi smrzavanja i ostavljanje na toj temperaturi nekoliko dana. Rezultat toga je ubrzano taloženje soli vinske kiseline (tartarata) takozvanog vinskog kamena. To je proces prirodno prisutan u vinu, ali se na ovaj način znatno ubrzava te se pored tartarata na dno talože i druge nestabilne tvari te mikroorganizmi. Poslije provedbe hladne stabilizacije vino je potrebno filtrirati dok je još hladno.

Za mehaničko odstranjivanje čestica mutnoće od vina koriste se razne izvedbe filtarskih i centrifugalnih separatora. Starija metoda filtracije je preko naplavnih filtara uz dodavanje nekog pomoćnog sredstva, a noviji postupak filtracije je membranska filtracija i to mikrofiltracija. Mikrofiltracijom se iz vina uklanjaju razne čestice mutnoće, ali i nestabilni spojevi te stanice kvasaca i razne druge makromolekule kao što su proteini i pektinske tvari. [Pozderović, 2010., Banović, 2008.].

2.4.4. Antioksidativna aktivnost

Zaštitna uloga polifenola u biološkim sustavima pripisuje se njihovoj sposobnosti sparivanja elektrona slobodnog radikala što se još naziva i antiradikalna aktivnost. Osim ove aktivnosti polifenoli pokazuju sposobnost kelatnog vezanja iona prijelaznih metala (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+}). To višestruko djelovanje je odgovorno za ukupnu učinkovitost polifenolnih spojeva, a zajedno se naziva antioksidacijska aktivnost.

Antioksidansi su tvari koje štite stanice od oksidacijskog djelovanja slobodnih radikala, sprječavaju oksidaciju oksidabilnih spojeva. To su spojevi koji inhibiraju ili odgađaju oksidaciju supstrata kada su prisutni u koncentraciji manjoj od supstrata. Antioksidansi neutraliziraju slobodne radikale dajući im svoj elektron ili inhibiraju stvaranje slobodnih radikala. Antioksidansi imaju svojstva kojima djeluju kao reducirajuće sredstvo.

Slobodni radikali su vrlo reaktivni jer sadrže jedan ili više nesparenih elektrona u elektronskim orbitalama. Slobodni radikali mogu oštetiti lipidnu membranu stvarajući ugljikov radikal koji reagira s kisikom i daje peroksidni radikal koji dalje reagira s masnim kiselinama stvarajući nove ugljikove radikale.

U organizmu postoji ravnoteža između oksidativnog stresa tj. oštećenja. Ako izostane antioksidacijska zaštita protiv nastajućih slobodnih radikala, može doći do oksidativnog stresa. Slobodni radikali, reaktivne vrste kisika te oksidativni stres zajedno uz neke druge faktore, uključeni su u razvojne procese mnogih bolesti kao što su: kardiovaskularne bolesti,

dijabetes, različiti upalni procesi. Polifenoli i drugi antioksidansi mogu, hvatanjem slobodnih radikala te drugim antioksidacijskim aktivnostima, smanjiti rizik od nastajanja mnogih bolesti [Krivak, 2010.].

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak rada bio je odrediti sadržaj antocijana, degradaciju antocijana, sadržaj polifenola, sadržaj flavonoida i antioksidativnu aktivnost u crnim vinima Slovačke (Levicka frankovka, Frankovka modra, Frankovka modra rose, Cabernet Sauvignon, Alibernet, Merlot).

3.2. MATERIJAL I METODE

Uzorci slovačkih vina nabavljeni su na tržištu.

3.2.1. Uzorci vina koji su analizirani

Tablica 1 Prikaz uzoraka vina koji su analizirani

Oznaka uzorka	Sorta	Proizvođač	Godina berbe	Vinogorje
1	Levicka frankovka	Vino Nitra	2008.	Nitra
2	Levicka frankovka		2009.	
3	Frankovka modra		2009.	
4	Cabernet Sauvignon		2009.	
5	Frankovka modra	Chateau Topolčianky	2009.	
6	Cabernet Sauvignon		2009.	
7	Alibernet		2009.	
8	Frankovka modra	Villa Vino Rača	2009.	Donjokarpatsko
9	C. Sauvignon		2008.	
10	Frankovka modra rose	Matyšák	2009.	
11	Frankovka modra		2009.	
12	Cabernet Sauvignon		2009.	
13	Frankovka modra	Pivnice Tibava	2009.	Istočnoslovačko
14	Merlot	Movino	2008.	Srednjeslovačko

3.2.2. Određivanje ukupnih polifenola

Koncentracija ukupnih polifenola određena je Folin – Ciocalteu metodom, mjerenjem absorbance pri valnoj duljini od 765 nm (Ough, & Amerine, 1988). Sadržaj polifenolnih spojeva je interpoliran pomoću kalibracijske krivulje galne kiseline i izražen u g galne kiseline/kg uzorka.

3.2.3. Određivanje antocijana

Za određivanje antocijana primijenjena je pH-diferencijalna metoda. pH-diferencijalna metoda se zasniva na strukturnoj transformaciji kromofora antocijana u ovisnosti o promjeni pH. Antocijani podliježu reverzibilnoj strukturnoj transformaciji s promjenom pH koja se manifestira promjenom spektra absorbancije. pH-diferencijalna metoda za određivanje antocijana omogućava brzo i točno mjerenje ukupnih antocijana, bez obzira na prisutnost polimeriziranih, degradiranih pigmenata i drugih tvari koje bi mogle smetati. Antocijani su određivani metodom prema Giusti i Wrolstadu (2001.) s malom modifikacijom (Giusti i Wrolstad, 2001.). Otpipetirano je 0,2 mL ekstrakta uzorka u dvije kivete, u jednu je dodano 1 mL pufera pH 1, a u drugu 1 mL pufera pH 4,5. Nakon stajanja od 15 min uzorcima je pomoću spektrofotometra mjerena absorbanca pri valnim duljinama od 512 nm i 700 nm. Sadržaj antocijana je izračunat prema slijedećoj formuli:

$$C_{(antocijana)} (mg/kg) = (A \times M \times FR \times 1000) / \varepsilon \times l$$

gdje je:

A - absorbancija uzorka, a izračunava se prema izrazu:

$$A = (A_{508} - A_{700})_{pH\ 1} - (A_{508} - A_{700})_{pH\ 4,5}$$

M - 449,2

FR - faktor razrjeđenja

ε - molarna absorptivnost; 26 900

l - duljina kivete; 1 cm

(M i ε su uzeti za dominantnu vrstu antocijanina odnosno za cijanidin-3-glukozida).

3.2.4. Određivanje degradacije antocijana

Degradacija antocijana odnosno smanjenje intenziteta crvene boje (A_{508}) i povećanje posmeđivanja (A_{420}) se izračunava prema formuli:

Gustoća boje kontrolnog uzorka (tretiranog vodom):

$$\text{Gustoća boje} = [(A_{420} - A_{700}) + (A_{508} - A_{700})] \times \text{FR}$$

Boja nastala polimerizacijom (uzorak tretiran bisulfitom):

$$\text{Boja nastala polimerizacijom} = [(A_{420} - A_{700}) + (A_{508} - A_{700}) \times \text{FR}]$$

FR – faktor razrjeđenja

$$\% \text{ boje nastale polimerizacijom} = \text{boja nastala polimerizacijom} / \text{gustoća boje} \times 100.$$

3.2.5. Određivanje antioksidacijske aktivnosti

ABTS metoda

U ABTS metodi prati se raspadanje radikala $\text{ABTS}^{\cdot+}$ koji nastaje oksidacijom 2, 2'-azinobis(3-etilbenzotiazilin-6-sulfonat) (ABTS) djelovanjem fenolnih tvari. U odsutstvu fenolnih tvari, $\text{ABTS}^{\cdot+}$ je relativno stabilan, ali brzo reagira u prisutstvu donora H^+ te prelazi u nebojeni oblik ABTS-a (Arnao i sur., 2001.).

Postupak: odpipetirano je 0,2 ml uzorka te dodano 3,2 ml otopine ABTS, dobro promiješa i smjesa se ostavi reagirati 1 h i 35 min u mraku. Nakon toga mjeri se absorbanca pri 734 nm. Antioksidativna aktivnost izračunata je iz kalibracijske krivulje uz trolox kao standard. Za svaki uzorak provedena su dva mjerenja.

3.2.6. Određivanje ukupnih flavonoida

Za određivanje ukupnih flavonoida primjenjena je metoda prema Kim, Jeong i Lee (2003.) s modifikacijom (Blasa i sur., 2005.). Za kalibraciju su uzete različite koncentracije kvercetina (5-114 $\mu\text{g/ml}$), a linearnost je 0,9953 (R^2). Ukratko, 1 ml otopine vina (1 mg/ml) je pomiješan s 0,3 ml NaNO_2 (5%), a nakon 5 min je dodano 0,3 ml AlCl_3 (10%). Uzorci vina su pomiješani i 6 min kasnije neutralizirani s 2 ml otopine NaOH (1M). Absorbanca je izmjerena za sve uzorke pri 510 nm, a kvantifikacija izvedena koristeći kalibracijsku krivulju. Rezultati su izraženi u mg ekvivalenata kvercetina (QE) / 100 g vina, kao srednja vrijednost triju ponavljanja.

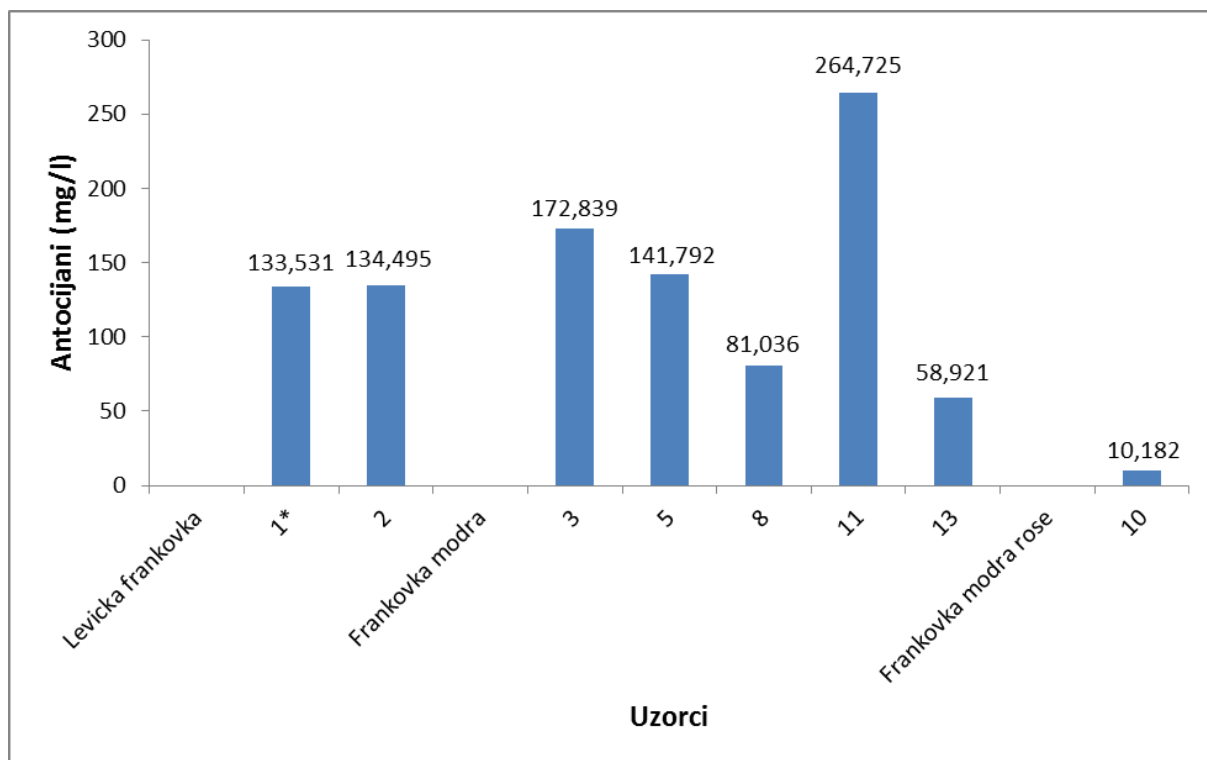
4. REZULTATI

Tablica 2 Antioksidativna aktivnost i sadržaj polifenola i flavonoida u ispitivanim crnim vinima

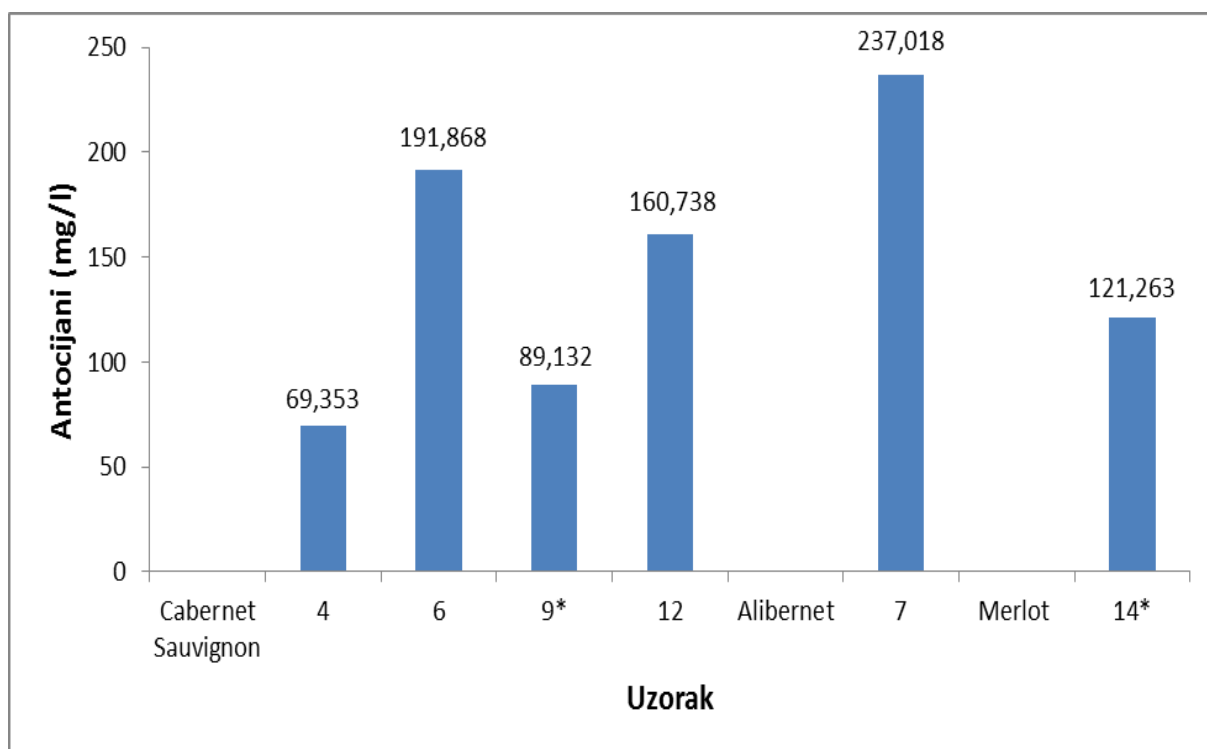
Oznake uzorka	Sorta	Proizvođač	Godina berbe	A.A. (ABTS) (mmol/100ml)	Polifenoli (g/l)	Flavonoidi (g/l)
1	Levicka frankovka	Vino Nitra	2008.	3,325	1,51	1,827
2	Levicka frankovka		2009.	3,262	1,507	1,827
3	Frankovka modra		2009.	3,981	1,853	2,894
4	C. Sauvignon		2009.	4,364	2,163	3,105
5	Frankovka modra	Chateau Topolčianky	2009.	3,764	1,68	2,305
6	C. Sauvignon		2009.	5,208	2,777	3,427
7	Alibernet		2009.	4,372	2,17	2,137
8	Frankovka modra	Villa Vino Rača	2009.	5,17	2,703	4,485
9	C. Sauvignon		2008.	5,109	2,64	4,228
10	Frank. modra rose	Matyšák	2009.	1,972	0,47	0,274
11	Frankovka modra		2009.	4,477	2,137	2,999
12	C. Sauvignon		2009.	5,017	2,393	3,435
13	Frankovka modra	Pivnice Tibava	2009.	3,214	1,2	1,251
14	Merlot	Movino	2008.	6,755	4,25	5,814

Tablica 3 Sadržaj i degradacija antocijana u ispitivanim vinima

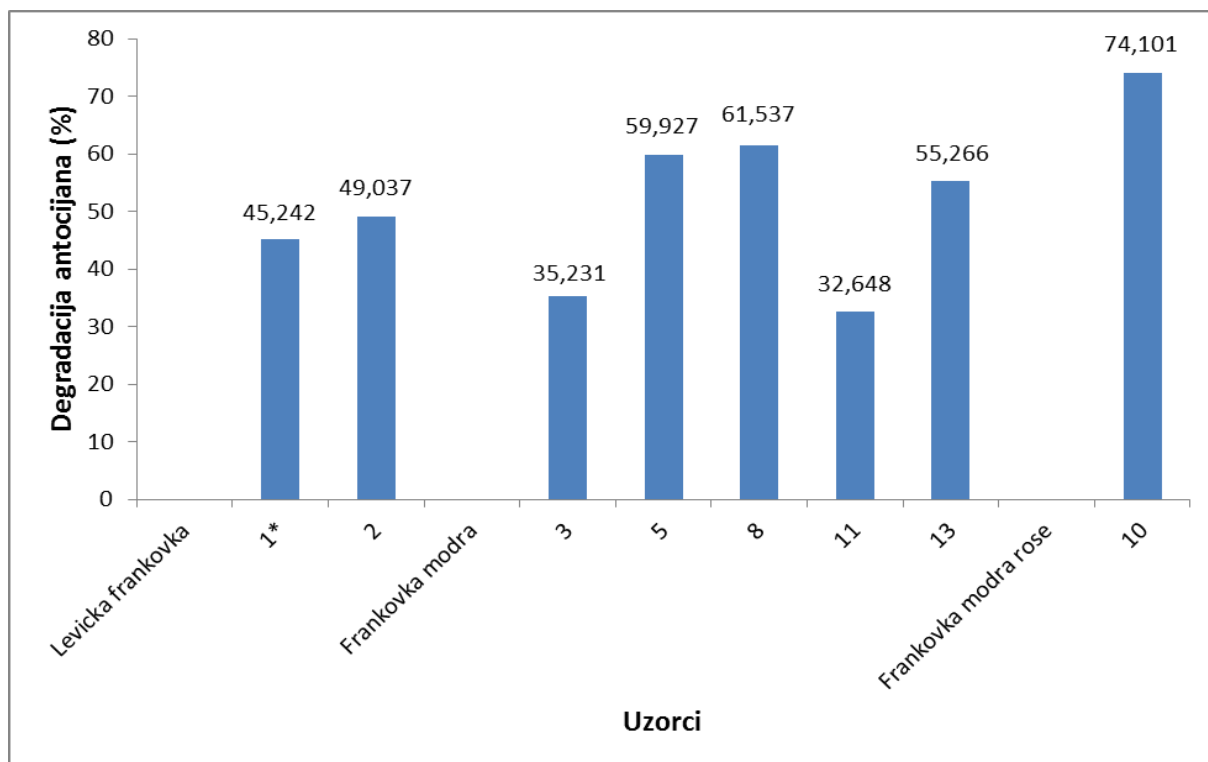
Oznake uzorka	Sorta	Proizvođač	Godina berbe	Degradacija antocijana (%)	Antocijani (mg/L)
1	Levicka frankovka	Vino Nitra	2008.	45,242	133,531
2	Levicka frankovka		2009.	49,037	134,495
3	Frankovka modra		2009.	35,231	172,839
4	C. Sauvignon		2009.	67,995	69,353
5	Frankovka modra	Chateau Topolčianky	2009.	59,927	141,792
6	C. Sauvignon		2009.	58,973	191,868
7	Alibernet		2009.	56,046	237,018
8	Frankovka modra	Villa Vino Rača	2009.	61,537	81,036
9	C. Sauvignon		2008.	60,638	89,132
10	Frank. modra rose	Matyšák	2009.	74,101	10,182
11	Frankovka modra		2009.	32,648	264,725
12	C. Sauvignon		2009.	58,94	160,738
13	Frankovka modra	Pivnice Tibava	2009.	55,266	58,921
14	Merlot	Movino	2008.	57,579	121,263



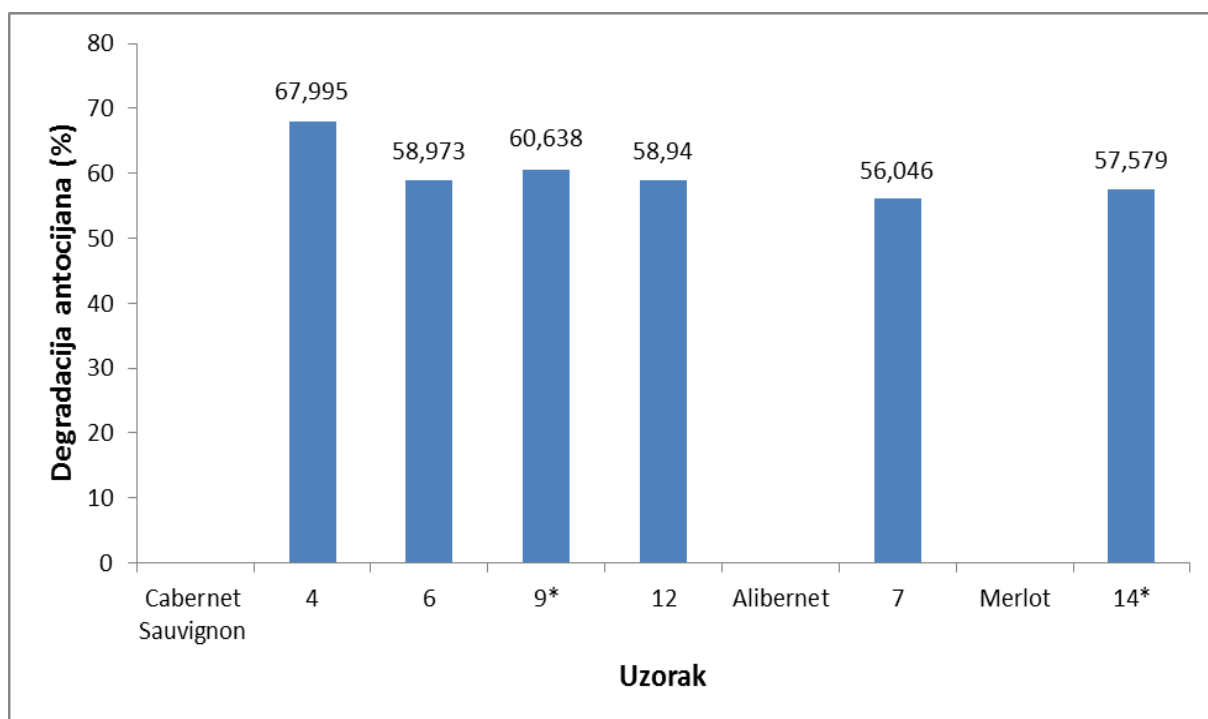
Slika 1. Sadržaj antocijana u ispitivanim crnim vinima (berba *2008. i 2009.)



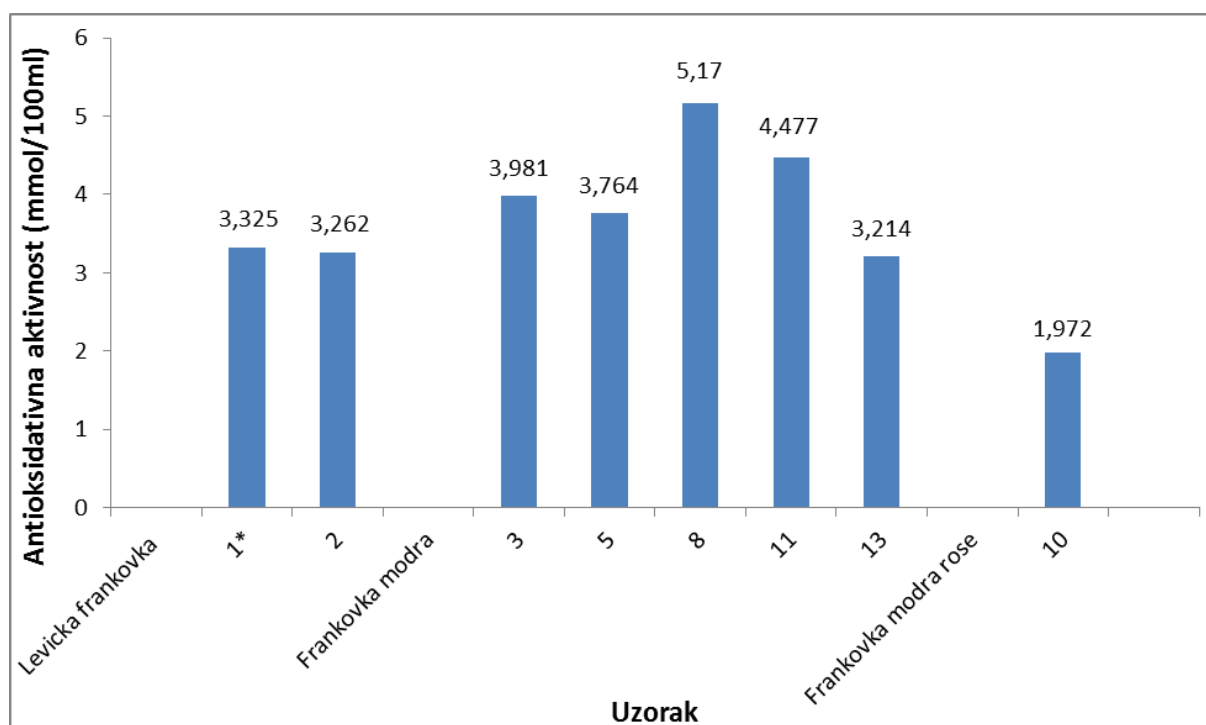
Slika 2. Sadržaj antocijana u ispitivanim crnim vinima (berba *2008. i 2009.)



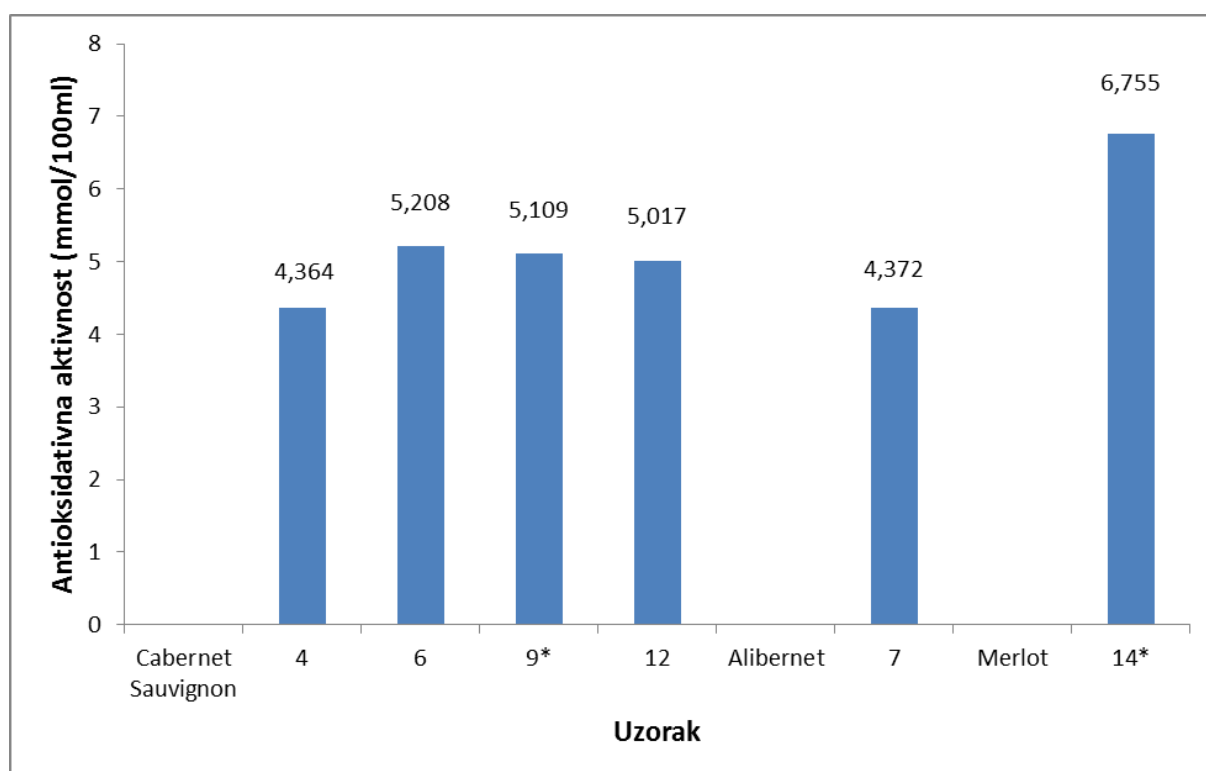
Slika 3. Degradacija antocijana u ispitivanim crnim vinima (berba *2008. i 2009.)



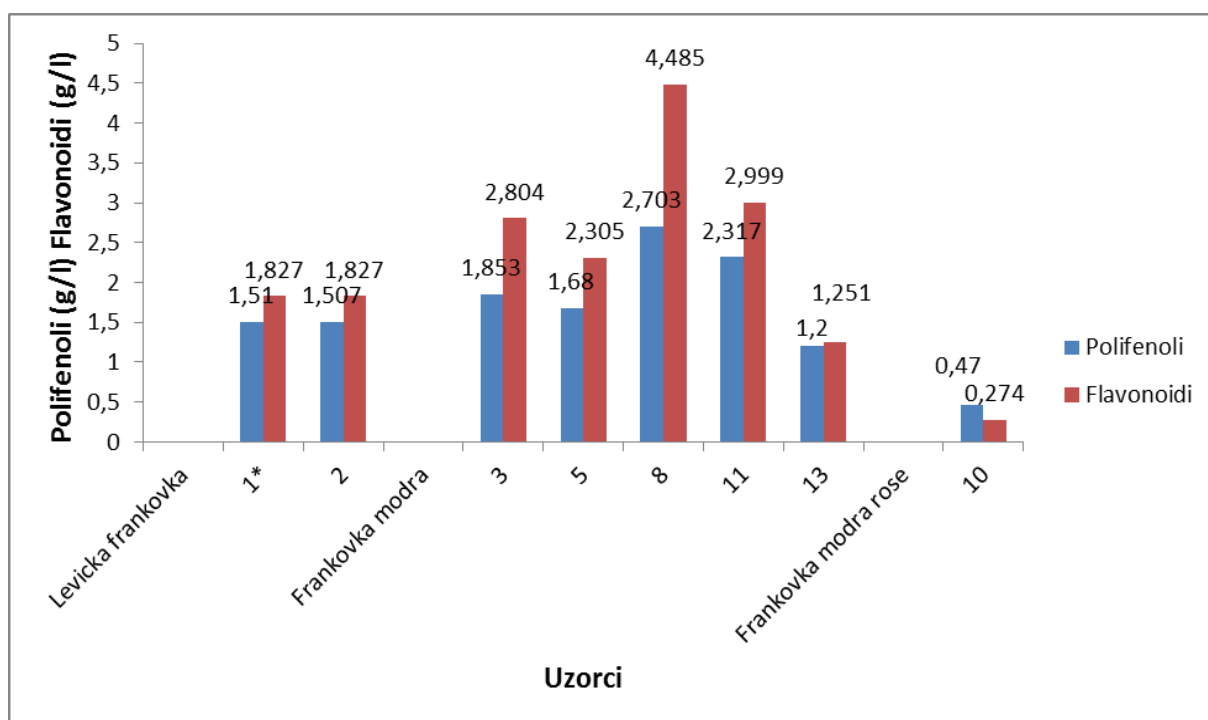
Slika 4. Degradacija antocijana u ispitivanim crnim vinima (berba *2008. i 2009.)



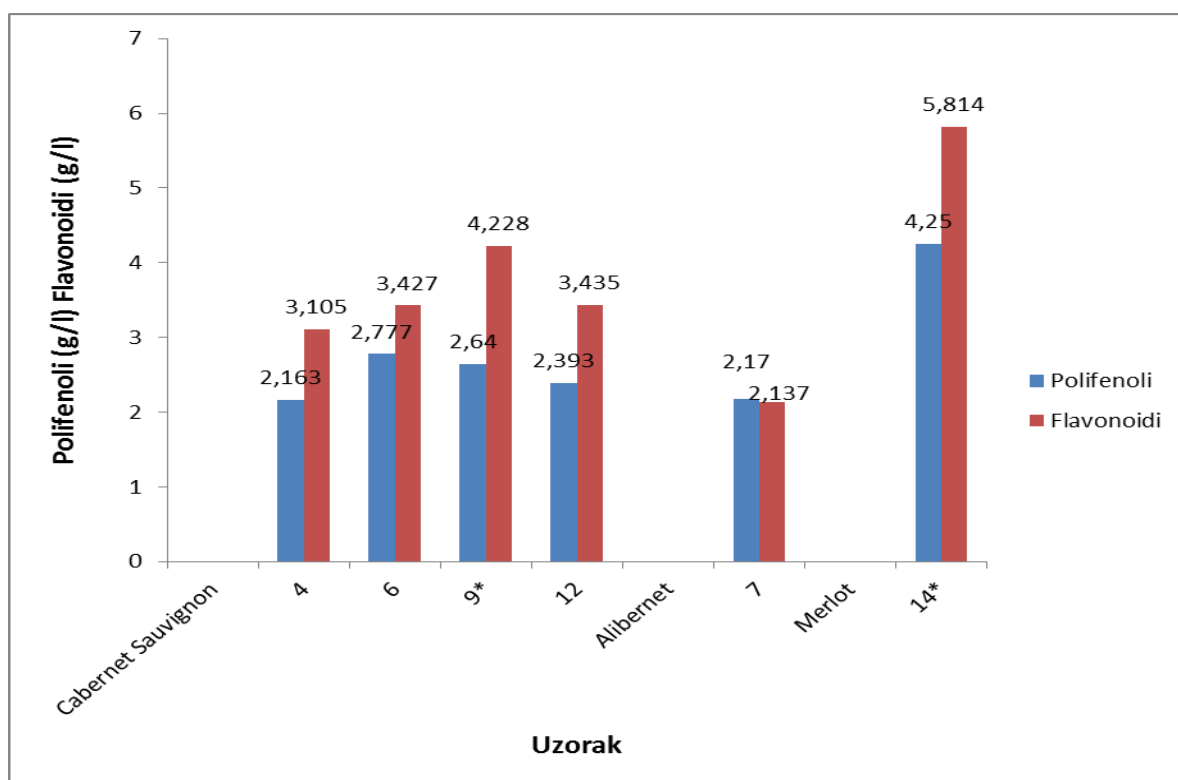
Slika 5. Antioksidativna aktivnost u ispitivanim crnim vinima (berba *2008. i 2009.)



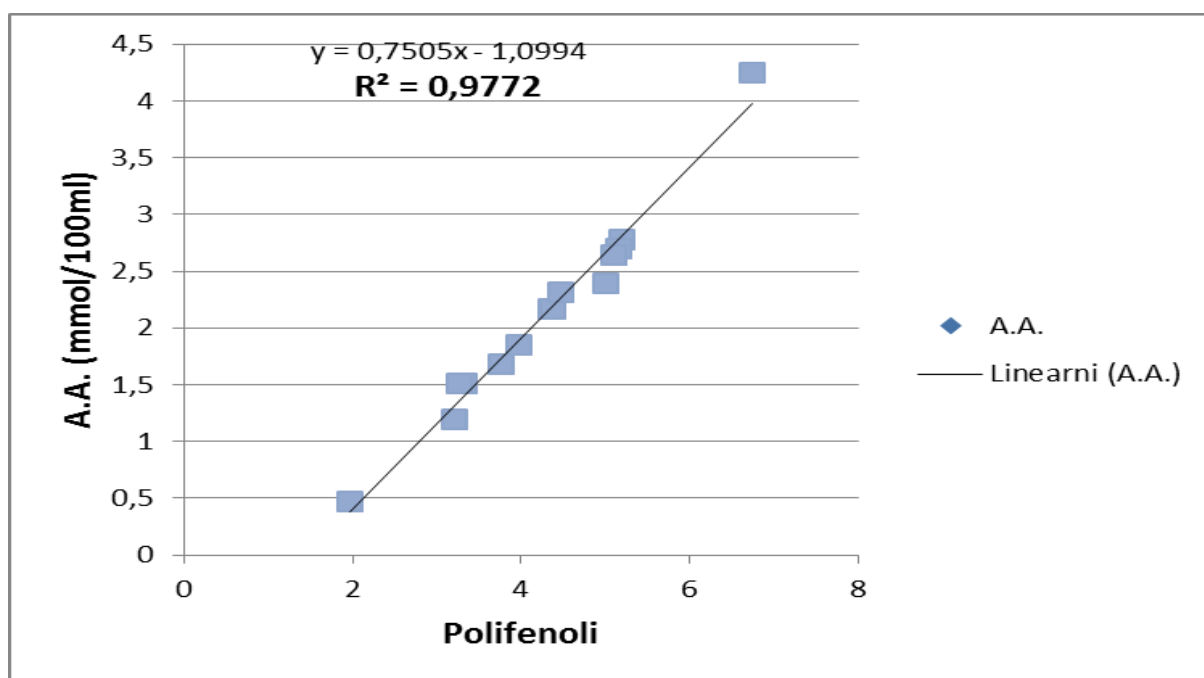
Slika 6. Antioksidativna aktivnost u ispitivanim crnim vinima (berba *2008. i 2009.)



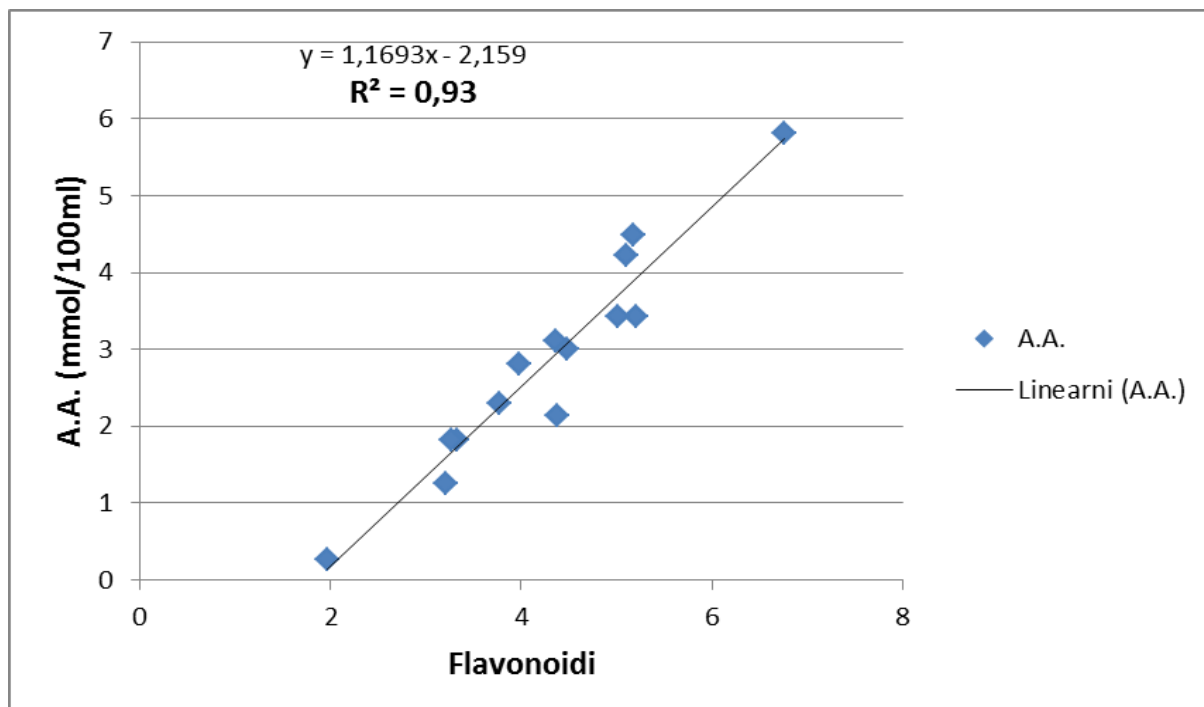
Slika 7. Sadržaj polifenola i flavonoida u ispitivanim crnim vinima (berba *2008. i 2009.)



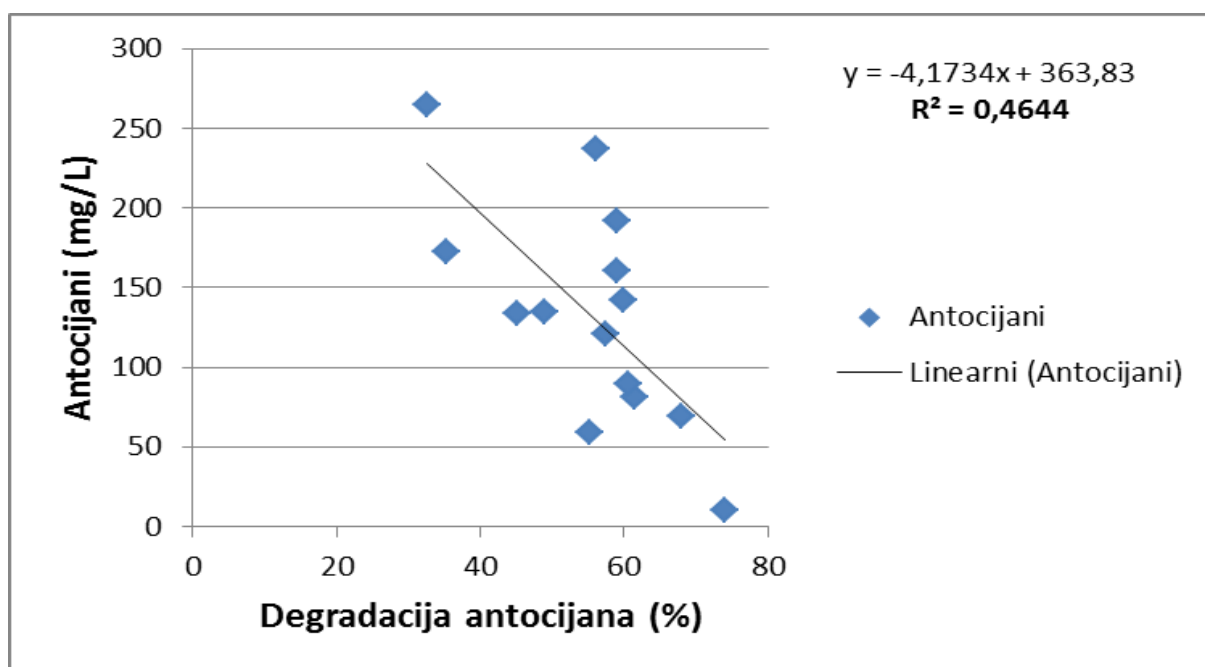
Slika 8. Sadržaj polifenola i flavonoida u ispitivanim crnim vinima (berba *2008. i 2009.)



Slika 9. Korelacija između sadržaja polifenola i antioksidativne aktivnosti (ABTS) u crnim vinima



Slika 10. Korelacija između sadržaja flavonoida i antioksidativne aktivnosti (ABTS) u crnim vinima



Slika 11. Korelacija između sadržaja antocijana i degradacije antocijana

5. RASPRAVA

5.1. ANTOCIJANI

U tablici 3 prikazani su ukupni rezultati određivanja sadržaja antocijana u ispitivanim vinima, dok su na slikama 1 i 2 prikazani rezultati određivanja antocijana u različito grupiranim vinskim sortama iz berbe 2008. i 2009. s nekoliko različitih lokacija i vinogorja koja imaju različite i karakteristične agroklimatske uvjete.

Prema podacima u tablici 3 i na slikama 1 i 2 vidi se da se u ispitivanim vinima sadržaj antocijana razlikuje između pojedinih sorti u istoj godini berbe kao i kod iste sorte u različitim godinama berbe. To znači da na sadržaj antocijana utječe sorta, okolinski i klimatski uvjeti odnosno godina berbe i karakteristike vinogorja. Iz podataka u tablici 3 i slikama 1 i 2 vidi se da je 2009. g. u Slovačkoj najveći udio antocijana imalo vino sorte Frankovka modra uzorak 11 (264,72 mg/L) iz Donjokarpatskog vinogorja. Nakon ovog vina slijedi vino sorte Alibernet, uzorak broj 7 (237,018 mg/L) iz vinogorja Nitra koja je nastala križanjem sorti Alicante i Cabernet Sauvignon, a najmanji sadržaj antocijana je imalo vino sorte Frankovka modra uzorak 13. (58,921 mg/L) iz Istočnoslovačkog vinogorja. Jedini ispitivani uzorak rose vina, Frankovka modra rose, uzorak broj 10, Donjokarpatsko vinogorje, imalo je sadržaj antocijana od 10,182 mg/L. Iz iste tablice i slike uočljivo je da je vino sorte Cabernet Sauvignon iz 2009. g. imalo različit sadržaj antocijana u različitim vinogorjima. Najbogatije antocijanima je vino iz vinogorja Nitra, uzorak 6. (191,868 mg/L) koje ima najbolje uvjete za vinogradarstvo i vinarstvo. Iz regije Donjokarpatske analizirali smo uzorke C Sauvignona berbe 2008., uzorak 9. (89,132 mg/L), i 2009, uzorak 12. (160,738 mg/L). Pokazalo se da je berba 2009. daleko bogatija antocijanima. U Donjokarpatskom vinogorju za sortu C Sauvignon berba 2009., uzorak 12., je skoro duplo bogatija antocijanima od uzorka berbe 2008. (uzorak 9.). Po tome zaključujemo da na sadržaj antocijana u crnom vinu veći utjecaj ima godina berbe odnosno klimatski uvjeti u određenoj godini od ostalih uvjeta koji su važni za proizvodnju vrhunskih vina (položaj, urod po čokotu, tehnologija itd.). Ispitivani uzorci Levicke frankovke tek se neznajno razlikuju, uzorak broj 2 iz 2009. godine sa sadržajem od 134,495 mg/L je tek za malo bogatiji antocijanima od vina iz prethodne berbe (uzorak broj 1 - 133,531 mg/L). Zanimljivi su rezultati ispitivanja vina Frankovke modre, ispitivali smo 5 uzoraka iz ukupno 3 vinogorja i sve iz 2009. godine. Najbogatiji antocijanima se pokazao uzorak broj 11 iz Donjokarpatskog vinogorja koji je pokazao najveći sadržaj antocijana od 264,725 mg/L. Iz istog vinogorja smo analizirali i uzorak drugog proizvođača. Uzorak broj 8 je pokazao znatno manju vrijednost od 81,036 mg/L antocijana što upućuje na zaključak o lošijim mikroklimatskim uvjetima (položaj) i lošoj tehnologiji u drugoj vinariji.

Uspoređivajući pojedina vinogorja može se vidjeti da postoje značajnija odstupanja u sadržaju antocijana kod istih sorti u istoj godini berbe. Uzorci 4 (69,353 mg/L) i 6 (191,868 mg/L) iz vinogorja Nitra pokazuju nerazmjernu količinu antocijana, a ista su godina berbe.

Budući da je riječ o različitim proizvođačima može se zaključiti da je riječ o različitim mikroklimatskim uvjetima (položaju) i eventualno urodu po čokotu te mogućoj razlici u tehnologiji.

Što se tiče usporedbe različitih sorti u istom vinogorju (vinogorje Nitra iz kojeg smo imali najveći dio uzoraka) može se vidjeti da je kod tri sorte, Levicka frankovka, Frankovka modra i Cabernet Sauvignon, u 2009. g., osim kod uzorka broj 4, sadržaj antocijana relativno visok, od 133 do 191 mg/L, što znači da ovo vinogorje jednako dobro pogoduje navedenim ispitivanim sortama.

Kada se rezultati uspoređivaju s rezultatima za hrvatska vina očigledno je da su vina Slovačke znatno bogatija antocijanima što se tiče vina istih sorti kao što su Frankovka i Cabernet Sauvignon. [Zagorščak, 2011.] Tako su vina sorte Frankovka iz kontinentalne Hrvatske, vinogorje Feričanci, pokazalo sljedeće rezultate: 44,149 mg/L i 81,036 mg/L, dok su za C Sauvignon izmjerene vrijednosti 55,332, 61,257 i 97,394 mg/L što je znatno siromašnije od rezultata ispitivanja slovačkih vina. Isto se može reći i za rezultate koje je pokazalo istraživanje za vino Merlot. I u ovom slučaju slovačko vino je bilo znatno bogatije (121,263 mg/L) nego tri primjerka hrvatskog vina sorte Merlot iz kontinentalnih vinogorja: 86,044, 67,433, 98,145 mg/L, dok je uzorak vina iste sorte iz primorske Hrvatske imao sadržaj antocijana od 77,448 mg/L što je također slabije od slovačkog uzorka.

Sva ispitivana vina su od sorti koje kasno zriju osim uzorka Merlota koji se bere oko dva do tri tjedna ranije od Cabernet Sauvignona.

5.2. DEGRADACIJA ANTOCIJANA

Degradacija je, kako je sam hrvatski leksikon definira, postupno snižavanje, smanjivanje ili gubljenje nekoga svojstva, opći naziv za različite procese koji tvarima u negativnom smislu mijenjaju izgled i svojstva.

Prema podacima u tablici 3 i na slikama 3, 4 i 11 vidi se da je degradacija antocijana veća što je manji sadržaj antocijana u ispitivanim vinima i obrnuto. Time možemo ustanoviti da te dvije pojave ukazuju na izvjesnu povezanost. To potvrđuju i podatci na slici 11 iz koje se vidi da postoji stvarna značajna korelacija između sadržaja antocijana i degradacije antocijana, koeficijent korelacije ima vrijednost 0,46 (linearnom porastu jedne varijable odgovara linearno opadanje druge varijable). Međutim, degradacija antocijana nije u potpunosti proporcionalna sadržaju antocijana, to znači za dvostruko veći sadržaj antocijana nije dvostruko manja degradacija i obrnuto. To potvrđuju podatci ispitivanja. Navedeni podatci ukazuju na to da sadržaj antocijana ne ovisi samo o degradaciji antocijana nego kao što je prethodno već rečeno i o okolinskim uvjetima, godini berbe, položaju, urodu, poduzetim agrotehničkim mjerama itd.

Ako se promatraju podatci za sadržaj antocijana i degradaciju antocijana za istu sortu u istom vinogorju, a različite godine berbe (u ovom slučaju berba 2008. i 2009.) na primjer sorta Cabernet Sauvignon uzorci 9 i 12, vidi se da što je vino starije odnosno što je dulje odležavalo da je sadržaj antocijana manji, a degradacija antocijana veća što se nameće kao logičan zaključak istraživanja.

Kad se vrše uspoređivanja s hrvatskim vinima kad promatramo degradaciju antocijana vidi se neznatno odstupanje što se tiče vina Merlot. Ispitivani uzorak slovačkog vina ima degradaciju od 57% prema degradaciji od 62, 71 i 56% u hrvatskim vinima te 66% u uzorku iz primorske Hrvatske. Što se tiče sorte C Sauvignon rezultati su podjednaki i ne pokazuju prevelika odstupanja jedni od drugih.

5.3. POLIFENOLI I FLAVONOIDI

Istraživanja slobodnih radikala posljednja dva desetljeća naglašavaju činjenicu da hrana bogata antioksidansima ima značajnu ulogu u prevenciji bolesti raka, upalnih procesa, te neurodegenerativnih bolesti i posebno kardiovaskularnih problema. Novija istraživanja ukazuju na dodatnu ulogu polifenolnih spojeva koji mogu djelovati kao antioksidansi ili putem drugih mehanizama doprinose antikancerogenom i kardioprotektivnom djelovanju.

Ukupni rezultati određivanja količine polifenola i antocijana prikazani su u tablici 2, dok su na slikama 7 i 8 dobiveni rezultati obrađeni grafički.

Iz tih podataka jasno se vidi da što je veći sadržaj polifenola to je veći i sadržaj flavonoida, odnosno da postoji značajna korelacija između tih sadržaja. Također se može vidjeti da se sadržaj polifenola i flavonoida za pojedine sorte grožđa razlikuje za pojedine godine berbe kao i u istoj godini berbe za pojedina vinogorja.

Iz podataka na slici 8 vidi se da je sadržaj polifenola i flavonoida iz berbe 2009. g. veći u vinogorju Donjokarpatskom nego u vinogorju Nitra za sortu Cabernet Sauvignon. Dobiveni rezultati vina C Sauvignon za berbu 2008. pokazuju nešto veći sadržaj i polifenola i antocijana u istom vinogorju kad ih uspoređivamo s berbom 2009. godine (uzorci 9 i 12), dok uzorci 1 i 2 (Levicka frankovka) pokazuju tek neznatno odstupanje. S druge strane najmanji udio polifenola i antocijana, kao što je bilo i za očekivati, pokazuje jedino ispitivano rose vino, Frankovka modra rose koja ima samo 0,47 g/L polifenola i 0,274 g/L antocijana. Zanimljivo je da jedino ovaj uzorak pokazuje manji sadržaj antocijana od polifenola.

Kad se promatraju vinogorja iz slika 7 i 8 jasno se vidi da je vinogorje Donji Karpati bogatije polifenolima i flavonoidima od Nitranskog vinogorja. Iz Donjokarpatskog vinogorja najveći sadržaj flavonoida pokazuju uzorci 8 (Levicka frankovka – 4,485 g/L) i uzorak Cabernet Sauvignona broj 9 (4,228 g/L) dok je, s druge strane, najmanji sadržaj polifenola i flavonoida

pokazalo uzorak 13 Frankovke modre koji je pokazao količinu polifenola po litru u iznosu od 1,2 g i flavonoida od 1,251 g.

Uspoređujući različite sorte u istome vinogorju može se zaključiti da je u Nitranskom vinogorju količina i polifenola i antocijana bogatija za Frankovku modru, uzorci 3 i 5, u odnosu na Levicku frankovku (uzorci 1 i 2). To vrijedi i za 2008. i 2009. godište. Usporedba različitih sorti u vinogorju Donji Karpati između vina Frankovka modra (uzorci 8 i 11) i C Sauvignon (uzorci 9 i 12) otkriva nešto veće vrijednosti polifenola i flavonoida za uzorke Frankovke. Prema tablici 2 lako se vidi da je najveću vrijednost polifenola i flavonoida u vinogorju Nitra imalo vino Cabernet Sauvignon (uzorak broj 6), zatim isto vino uzorak broj 4 te zatim slijede uzorci Levicke frankovke broj 3 i 5. U Donjokarpatskom vinogorju najbogatija je Levicka frankovka broj 8, zatim C Sauvignon broj 9.

Što se tiče ukupne količine polifenola i flavonoida iz tablice 2 i slika 7 i 8 očito se vidi da uzorak Merlota iz vinogorja Srednja Slovačka odstupa od drugih s količinom polifenola od 4,25 g/L i flavonoida od 5,814 g/L. Ovo je zanimljivo iz zbog toga jer je ovo berba 2008., a kao i uzorak 9 Cabernet Sauvignona iz 2008. koji pokazuje veće vrijednosti polifenola i flavonoida od uzoraka 4, 6 i 12 iz godine 2009., pa se može zaključiti da je 2008. godina bila bolja za vinare što se tiče ovoga parametra.

Uspoređivajući rezultate ispitivanja s rezultatima hrvatskih vina vidi se da je vino Merlot slovačkih vinogorja pokazalo 4,25 i 5,814 g/L polifenola i flavonoida što je veća vrijednost u odnosu na 3,563 i 5,45 g/L polifenola i flavonoida u hrvatskim vinima. Isti se odnosi i na vina C Sauvignon i Frankovka pa zaključujemo da su vina Slovačke u znatnoj mjeri bogatija ovim dragocjenim tvarima.

5.4. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST

Antioksidansi su tvari koje usporavaju procese oksidacije u organizmu. Neki od antioksidanasa su enzimi i proteini dok su drugi male molekule antioksidanasa. Polifenoli i vitamini su poznati antioksidansi u prehrambenim proizvodima. Fenolne tvari kao npr. Vitamin E i flavonoidi su tipični antioksidansi,

Podatci za antioksidativnu aktivnost su prikazani u tablici 2 i na slikama 5 i 6. Korelacija između antioksidativne aktivnosti i sadržaja polifenola i flavonoida je prikazana na slikama 9 i 10. Prema navedenim podacima vidi se da se antioksidativna aktivnost u vinima Slovačke kreće od 1,972 do 6,755 mmol/100ml. Najmanju antioksidativnu aktivnost je imalo vino rose sorte Frankovka modra (1,972 mmol/100ml), a najjaču vrijednost je pokazivalo uzorak Merlota (6,755 mmol/100ml).

Ako se usporede ukupni podatci na slici 6 može se vidjeti da uzorak Cabernet Sauvignona ne pokazuje značajna odstupanja antioksidativne aktivnosti ni u različitim godinama berbe

niti u uzorcima iz različitih vinogorja. To se, isto tako, može zaključiti za uzorke 1 i 2 Levice frankovke gdje je berba iz 2008. s 3,325 mmol/100ml tek neznatno „aktivnija“ od berbe 2009. godišta (3,262 mmol/100ml).

Uspoređujući isto vinogorje može se zaključiti da nema značajnijih odstupanja kod istih sorti, ali različite sorte pokazuju odstupanje. Tako se vidi da kod vinogorja Nitra veću vrijednost antioksidativne aktivnosti pokazuje vino Cabernet Sauvignon (4,364 mmol/100ml i 5,208 mmol/100ml) od uzoraka Frankovke (3,981 mmol/100ml i 3,764 mmol/100ml). Ako se usporede različita vinogorja, a iste sorte također dolazimo do zaključka da nema nekog značajnijeg odstupanja u izmjeranim vrijednostima.

Prema podacima na slici 9 vidi se da postoji vrlo visoka korelacija, gotovo linearna, između sadržaja polifenola i antioksidativne aktivnosti ($r=0,9772$). Isto tako na slici 10 vidi se da postoji i vrlo visoka korelacija između sadržaja flavonoida i antioksidativne aktivnosti ($r=0,93$). Prema podacima na slikama 5, 6, 7, i 8 kao i kod sadržaja polifenola i flavonoida najveću antioksidativnu aktivnost je imala sorta Merlot (6,755 mmol/100ml), zatim uzorak broj 8 Frankovke modre (5,17 mmol/100ml), dok je najmanju antioksidativnu aktivnost, kao i ukupnu količinu polifenola i flavonoida imala Frankovka modra rose u količini od 1,972 mmol/100ml.

Uspoređujući dobivene rezultate s rezultatima istraživanja hrvatskih vina pokazalo se da su prosječno uzorci hrvatskih vina pokazivali veće vrijednosti antioksidacijske aktivnosti za pojedine sorte.

Također iz gornjeg izlaganja se vidi da je antioksidativna aktivnost karakteristika sorte grožđa i da se značajno ne razlikuje za istu sortu po vinogorjima i godini berbe.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Na sadržaj antocijana u ispitivanim crnim vinima utječe sorta, klima i okolišni uvjeti tj godina berbe i specifičnost vinogorja.
2. Ukupno uzevši u ispitivanim vinima za berbu 2009. Najveći sadržaj antocijana imalo je vino sorte Frankovka modra (uzorak 11), zatim slijedi sorta Alibernet (uzorak broj 7) te Cabernet Sauvignon (uzorak broj 6).
3. Prosječno uzevši prema sadržaju antocijana najbogatije vinogorje pokazalo se vinogorje Donji Karpati pa vinogorje Nitra.
4. Sadržajem antocijana najsiromašnije vinogorje je Istočnoslovačko.
5. Najmanji sadržaj antocijana je pokazalo rose vino sorte Frankovka modra.
6. Usporedivši godine berbe dolazi se do zaključka da je 2009. godina berbe bila povoljnija što se tiče sadržaja antocijana u vinima u odnosu na godinu 2008.
7. Što se tiče usporedbe istih sorti u različitim vinogorjima pokazalo se da je uzorak Frankovke modre u prosjeku bogatiji antocijanima u vinogorju Donji Karpati nego u Nitranskom vinogorju, dok je sorta Cabernet Sauvignon pokazala veći sadržaj antocijana u Nitranskom nego u Donjokarpatskom vinogorju.
8. Sadržaj antocijana u ispitivanim vinima je veći što je određena degradacija antocijana manja i obrnuto.
9. U ispitivanim vinima je utvrđena značajna korelacija između sadržaja polifenola i flavonoida.
10. Sadržaj polifenola i flavonoida u vinima ovisi o sorti, okolinskim i klimatskim uvjetima odnosno o godini berbe i karakteristikama vinogorja.
11. U istoj godini berbe za istu sortu sadržaj polifenola i flavonoida je veći u vinogorju Donji Karpati nego u vinogorju Nitra.
12. Sadržaj polifenola i flavonoida u vinu iste sorte, u istom vinogorju, ali različite godine berbe je veći za godinu 2008. nego za 2009. godište.
13. Sadržajem polifenola i flavonoida najbogatije se pokazalo Donjokarpatsko vinogorje.
14. Najmanji sadržaj polifenola i flavonoida je pokazalo vino Frankovka modra rose. To je jedini uzorak vina koji je pokazao manji sadržaj flavonoida od sadržaja polifenola.
15. Utvrđena je vrlo visoka korelacija između sadržaja polifenola i flavonoida u vinima i antioksidativne aktivnosti.

16. Najveću antioksidativnu aktivnost je imalo vino sorte Merlot iz berbe 2008.
17. Što se tiče 2009. godišta najveću antioksidativnu aktivnost imalo je vino Cabernet Sauvignon.
18. Vina sorte Cabernet Sauvignon imala su prosječno najveću antioksidativnu vrijednost.
19. Uspoređujući vinogorja dolazimo do zaključka da su vina Donjokarpatkog vinogorja imala prosječno najveću antioksidativnu vrijednost.
20. Antioksidativna aktivnost je karakteristika sorte grožđa i značajno se ne razlikuje za istu sortu po vinogorjima i godinama berbe.
21. Rezultati sličnog istraživanja uzoraka hrvatskih vina pokazala su da su hrvatska vina siromašnija ispitivanim elementima, ali su zato pokazivali veću vrijednost antioksidativne aktivnosti

7. LITERATURA

Prehrambeno-tehnološki fakultet: *Upute za pisanje diplomskog rada*. PTF, Osijek, 2001.

Hrvatski sabor: zakon o vinu: Broj: 01-081-03-2098/2, Zagreb, 3. Lipnja 2003.

<http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/305807.html> [1.12.2013.]

Licul R., Premužić D. : *Praktično vinogradarstvo i podrumarstvo*, Nakladni zavod Znanje, Zagreb, 1997.

Maletić E., Karaglan Kontić J., Pejić I: *Vinova loza; ampelografija, ekologija, oplemenjivanje*. Školska knjiga, Zagreb 2008

Ministarstvo poljoprivrede i šumarstva: Pravilnik o vinu. NN klasa 011-02/04-01/115, Urbroj: 525-1-04-1. Zagreb, 27.prosinca 2004.

Planinić M. : *Diplomski rad, Utjecaj procesnih parametara na kvalitetu vina Erdutska graševina kod ultrafiltracije pločastim modulom*, Osijek, srpanj 1998.

Pozderović A. : *Suvremeni tehnološki postupci u proizvodnji vina, Sheme procesa i uređaja iz predmeta : Tehnologija prerade sirovina biljnog podrijetla II. (Osnove tehnologije vina)*, Interna skripta, Osijek, 2008.

Pozderović A: *Tehnologija vina*. Interna skripta, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2010.

Vrdoljak I. : *Utjecaj membranske filtracije na aromu i kemijski sastav vina sorte graševina*. Diplomski rad, PTF, Osijek, 2009.

Zoričić M. : *Podrumarstvo*, Nakladni zavod Globus, Zagreb, 1997.

Banović N: *Vino*, Interna skripta, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2008.

M Vuković: *Utjecaj membranske filtracije na organoleptička svojstva vina sorte graševina*, dipl rad, ptfos 2000.

Johanides V. i sur: *Industrijska mikrobiologija*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 1984.

Krivak P: *Utjecaj različitih skupina polifenolnih spojeva prisutnih u aroniji na njezinu antiradikalnu aktivnost*. Diplomski rad, PTF, 2010.

Ribereau Gayon, P, Glories Y, Maujean A, Dudourdieu D: Handbook of enology – the chemistry of wine stabilization and treatments, second edition, John Wiley and sons, Chichester, West Sussex, England, 2006.

Ribereau Gayon, P, Glories Y, Maujean A, Dudourdieu D: Handbook of enology – the microbiology of wine and vinifications, second edition, John Wiley and sons, Chichester, West Sussex, England, 2006.

Fugelsang, Kenneth C, Edwards, Charles G: Wine microbiology, Springer, New York, Sjedinjene Američke Države, 2007.

Zagorščak M: Utjecaj vinograda i sorte na sadržaj polifenola i antocijana crnih vina.
Diplomski rad, PTF, 2011.